

Thesis

TÜBINGEN

1967

Aus dem Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. Hermann J. Knüttgen

Die Abhängigkeit der Plasmodien-Entwicklung im Warmblüter von der Umgebungstemperatur

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ulrich Ringwald
aus Stuttgart

1967

9209

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Das Preussische Institut der Universität Tübingen
Geisteswissenschaftliche Fakultät I
Johann Friedrich von und Hermann J. Kasper

Die Abt. für die Geschichte der
in Württemberg der Universität

Digitized by the Internet Archive
in 2026

1967

https://archive.org/details/IA40153519_0043

Aus dem Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. Hermann J. Knüttgen

Die Abhängigkeit der Plasmodien-Entwicklung
im Warmblüter von der Umgebungstemperatur

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ulrich Ringwald
aus Stuttgart

1967

Dekan: Prof. Dr. F. Lembeck

1. Berichterstatter: Doz. Dr. W. Kretschmar

Prof. Dr. H. J. Knüttgen

2. Berichterstatter: Prof. Dr. R. -E. Bader

Meinen Eltern

LITERATURVERZEICHNIS

	Seite
A. PROBLEMSTELLUNG	1
B. MATERIAL UND METHODEN	3
I. Erregerstamm und Tiermaterial	3
II. Haltung, Fütterung und Infektion der Versuchstiere	3
III. Messungen	4
IV. Auswertung der Befunde	5
V. Kontrolltiere	5
VI. Abkürzungen	6
C. UNTERSUCHUNGEN BEI EINER UMGEBUNGSTEMPERATUR VON 12° C	7
I. Vorversuch	7
II. Hauptversuch	9
1. Versuchsbedingungen	9
2. Ergebnisse	9
a) Überlebensdauer und Spontanheilungsquote	9
b) Reinfektion	11
c) Körpertemperatur	11
d) Parasitämie und Polychromasie	16
3. Zusammenfassung der Ergebnisse	20

	Seite
D. UNTERSUCHUNGEN BEI EINER UMGEBUNGSTEMPERATUR VON 32° C	21
I. Vorversuch	21
II. Hauptversuch	22
1. Versuchsbedingungen	22
2. Ergebnisse	22
a) Überlebensdauer und Spontanheilungsquote	22
b) Körpertemperatur	23
c) Parasitämie und Polychromasie	25
3. Zusammenfassung der Ergebnisse	29
E. DISKUSSION	30
F. SCHLUSSFOLGERUNGEN	39
G. ZUSAMMENFASSUNG	41
H. LITERATURVERZEICHNIS	43
Lebenslauf	

A . PROBLEMSTELLUNG

Daß die Entwicklung der Malariaerreger in der übertragenden Mücke von der Außentemperatur wesentlich beeinflußt wird, ist seit langem bekannt. Im warmblütigen Wirt mußte eine solche Abhängigkeit von vornherein als unwahrscheinlich betrachtet werden, da die Plasmodien als intraerythrozytäre Parasiten hier Schwankungen der Umgebungstemperatur nicht direkt ausgesetzt sind. Es liegen daher bis heute nur vereinzelte Angaben hierüber vor:

SERAGENT und PONCET (1961) berichteten, daß 6 Mäuse, die bei einer Umgebungstemperatur von 37°C gehalten wurden, einer Infektion mit *Plasmodium berghei* bis zu 10 Tagen früher erlagen als 6 bei 24°C gehaltene Tiere. BASU und seine Mitarbeiter (1962) beobachteten eine verminderte Parasitämie in *Pl. berghei*-infizierten Ratten und NYE (1961) eine Verlängerung der Entwicklungsdauer von *Pl. gallinaceum* in Küken, wenn die Körpertemperatur der Wirtstiere durch kurzfristiges Eintauchen in Eiswasser für mehrere Stunden gesenkt worden war. Ebenso fand McGHEE (1959) in seinen Versuchen mit *Pl. cathemerium*-infizierten Hühnerembryonen die Parasitämie und den Krankheitsverlauf bei einer Umgebungstemperatur von 30°C gegenüber 37°C deutlich abgeschwächt, konnte indessen keine Veränderungen in der Entwicklungsdauer der Plasmodien nachweisen. Im Widerspruch hierzu stehen Beobachtungen von BASU et al. (1962) über eine Verminderung der Parasitämie, wenn die Körpertemperatur von *Pl. berghei*-infizierten Ratten am 7. und 8. Tag p. i. um $1 - 2^{\circ}\text{C}$ erhöht wurde.

Die Untersuchungen der oben genannten Autoren können aber nur ein ungenaues Bild über die Abhängigkeit der Plasmodien-Entwicklung von der Umgebungstemperatur geben, da sie einerseits an einer zu geringen Zahl von Versuchstieren durchgeführt wurden, andererseits in keinem Falle auf eine konstante, stets reproduzierbare Versuchsanordnung geachtet wurde.

Voraussetzung für eine solche Reproduzierbarkeit sind bei Tierversuchen nicht nur die Verwendung eines reinrassigen Versuchstierstammes (GRÜNEBERG, 1954; SPIEGEL, 1963), um aufgrund der größeren genetischen Homogenität zu einheitlicheren Ergebnissen zu gelangen, sondern auch die Berücksichtigung und Gleichschaltung bestimmter Umweltfaktoren.

Bei der experimentellen Pl. berghei-Infektion der Maus ist die Kenntnis solcher den Infektionsverlauf verändernder Faktoren besonders wesentlich, da die Nagermalaria heute den wichtigsten Modellversuch zur Erprobung neuer Chemotherapeutica darstellt, so daß eine Standardisierung ihres Infektionsverlaufes zu fordern ist.

Wie in Versuchen, zu denen ausschließlich reinrassige Mäuse des Stammes NMRI/Tübingen verwendet wurden, nachgewiesen werden konnte, ist der Verlauf der Pl. berghei-Infektion in hohem Maße von exogenen Faktoren wie dem experimentell bedingten Stress (KRETSCHMAR, 1961, 1962, 1965 b) und der Ernährung der Versuchstiere (JACOBI und KRETSCHMAR, 1962; KRETSCHMAR und HAAKH, 1964; KRETSCHMAR, 1964 b, 1965 b, 1966) abhängig.

Es ergibt sich hieraus die Frage, ob als weiterer exogener Faktor nicht auch die Umgebungstemperatur der Versuchstiere einen nachweisbaren Einfluß auf den Infektionsverlauf ausübt. Die Lösung dieses Problems erschien um so dringender, als einerseits die Malaria nicht zuletzt in tropischen Ländern tierexperimentell erforscht wird, zum andern der Umgebungstemperatur der Versuchstiere generell bisher wenig Beachtung geschenkt wurde: Nur CHEN et al. (1943) und CHANCE (1957) wiesen auf einen möglichen Einfluß der Raumtemperatur bei tierexperimentellen Untersuchungen hin.

Die Frage der Temperaturabhängigkeit der Pl. berghei-Infektion im Warmblüter wurde daher von mir anhand eines genetisch homogenen Tiermaterials unter strengen Versuchsbedingungen untersucht. Um eindeutige Aussagen machen zu können, mußte es das Ziel der Versuchsanordnung sein, deutliche Temperaturunterschiede zu der bei uns üblichen Tierstall-Temperatur von etwa 22° C zu schaffen. Für die Experimente wurden daher Umgebungstemperaturen von 12° C und 32° C gewählt, wobei die Infektion sowohl ohne als auch nach 15-tägiger Akklimatisation erfolgte, nachdem in entsprechenden Vorversuchen geprüft worden war, welchen Einfluß die genannten Temperaturen bereits ohne Infektion auf die Körpertemperatur der Versuchstiere ausübten.

B. MATERIAL UND METHODEN

I. ERREGERSTAMM UND TIERMATERIAL

Bei dem benutzten Stamm von *Plasmodium berghei*, der seit Januar 1961 im Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen in Mäusepassagen geführt und für Versuche verwendet wird, handelt es sich um den von VINCKE und LIPS im Januar 1948 aus der Baumratte *Thamnomys surdaster* im Kongo isolierten Originalstamm (K. 173).

Der Mäusestamm NMRI/Tübingen stammt ursprünglich aus dem Naval Medical Research Institute, Bethesda, Md., USA, wo er seit 1951 - von einem Pärchen des A-Stammes des National Institute of Health, Bethesda, ausgehend - gezüchtet wird. Die von mir für Infektionsversuche und Kontrollen verwendeten Mäuse entstammen aus der Bundesforschungsanstalt für Viruserkrankungen der Tiere, Tübingen, der von Dr. Haakh in Kisslegg weitergeführten Zucht (Ivanovas) oder aus eigener Nachzüchtung reinrassiger Tiere. Der Mäusestamm NMRI ist infolge seiner ausgeprägten Resistenz gegen *Pl. berghei* für die Malariaforschung besonders geeignet (KRETSCHMAR, 1961, 1965 a; BRUCE-CHWATT, 1965).

Für die Versuche wurden etwa in gleicher Zahl männliche und weibliche Mäuse verwendet. Auf eine besondere Berücksichtigung des Geschlechts der Tiere konnte verzichtet werden, da frühere Beobachtungen keine Unterschiede im Verhalten von *Pl. berghei*-infizierten Mäusen in dieser Hinsicht gezeigt hatten.

II. HALTUNG, FÜTTERUNG UND INFEKTION DER VERSUCHSTIERE

Die Haltung der Mäuse erfolgte vor und während der Versuche in Makro-lonkäfigen (SPIEGEL und GÖNNERT, 1961). Die Besatzdichte lag bei Beginn

der Versuche bei 8 Tieren pro Käfig (Bodenfläche etwa 400 cm²). Die Tiere befanden sich ebenso wie die nichtinfizierten Kontrollen in einem Klimaschrank mit Luftzirkulation bei einer konstanten Raumtemperatur von 12⁰ C bzw. 32⁰ C. Die Temperaturgenauigkeit des Klimaschranks betrug $\pm 0,5^0$ C. Unabhängig von der Jahreszeit waren die Mäuse täglich 12 Stunden unter einer dem Tageslicht entsprechenden Beleuchtung. Zur Anfertigung der Blutausrichthe sowie zur Temperaturmessung wurden die Käfige jeweils nur kurzfristig aus dem Klimaschrank genommen.

Die Fütterung erfolgte ausschließlich mit der Altromin-Standarddiät R der Fa. Altrogge, Lage (Lippe), zu der nur reines Wasser ohne irgendwelche Zusätze verabreicht wurde.

Die Infektion der Mäuse erfolgte im Alter von 6 - 10 Wochen durch intraperitoneale Inokulation von parasitenhaltigem Blut, welches aus einer Maus, bei der eine Infektion seit etwa 10 Tagen bestand, durch Herzpunktion gewonnen wurde. Dieses Infektionsblut wurde mit physiologischer Kochsalzlösung und Natriumzitrat im Verhältnis 1:1 verdünnt. Die überimpfte Blutmenge sowie der Grad der Parasitämie im Spendertier sind für den Verlauf der Nagetiermalaria in hochresistenten Mäusestämmen wie die NMRI Mäuse ohne Bedeutung, wie frühere Untersuchungen ergeben hatten (KRETSCHMAR, 1961; KRETSCHMAR und MATTHAEI, 1965).

III. MESSUNGEN

Da der Beunruhigung der Mäuse durch Messungen eine für den Krankheitsverlauf besondere Bedeutung zukommt (KRETSCHMAR, 1961, 1962), wurden an allen Versuchstieren Messungen gleicher Anzahl und gleicher Art durchgeführt. Die Rektaltemperatur wurde täglich zwischen 10 und 12 Uhr gemessen, um die durch den Tagesrhythmus der Maus verursachte Schwankung der Körpertemperatur weitgehend auszuschalten. Die Körpertemperatur wurde rektal über ein Thermoelement mit elektrischer Anzeige gemessen und stets vor der Blutabnahme vorgenommen, um eine zusätzliche Temperaturerhöhung durch dieses Stressgeschehen zu vermeiden.

Zur quantitativen Beurteilung der Parasitämie wurden den Mäusen alle 5 Tage Blut aus der Schwanzvene entnommen. In nach Giemsa gefärbten Blutausrichen kamen jeweils mindestens 400 Erythrozyten zur Auszählung.

IV. AUSWERTUNG DER BEFUNDE

Die Überlebensdauer jeder einzelnen Maus wurde mit einer Genauigkeit von $1/3$ Tag bestimmt, wobei als Grenzen 16^{00} , 24^{00} , und 8^{00} Uhr dienten. Da die Infektion stets in der Zeit von 8^{00} bis 16^{00} stattfand, mußte die Maus mindestens nach 16^{00} Uhr des folgenden Tages noch am Leben sein, um eine Überlebenszeit von 1 Tag zu erreichen.

Die quantitative Auswertung der Messungen erfolgte nach dem Additionsverfahren. Zu jedem Mittelwert ($\bar{x}$) wurde die Standardabweichung (s_d) zur graphischen Darstellung und der mittlere Fehler des Mittelwerts ($s_{\bar{x}}$) für die Tabellenwerte berechnet. Dabei bedeutet "N" die Anzahl der zu dem Versuch benutzten Tiere, während "n" die Zahl der Messungen angibt. Für eine übersichtliche Darstellung der Versuchsergebnisse bei Temperaturmessungen wurden die für jeden Tag p.i. erhaltenen Werte in Gruppen zusammengefaßt. Eine Gruppe umfaßt 2 Tage und wird mit der höheren Tageszahl bezeichnet. So faßt beispielsweise die Gruppe "2. Tag p.i." die Messungen des 1. und 2. Tages p.i. zusammen.

Die Berechnung der Wahrscheinlichkeit (p), mit der sich unter der zu prüfenden Hypothese ein Versuchsergebnis als zufällig ergeben würde, wurde bei Vergleich von Prozentwerten nach der χ^2 -Methode von PEARSON durchgeführt, bei den Meßreihen nach dem Prüfverfahren von STUDENT (t-Test).

V. KONTROLLWERTE

Um die gleichbleibende Virulenz des Pl. berghei-Stammes fortlaufend zu kontrollieren, werden im Protozoologischen Laboratorium des Tropenmedizinischen Instituts, in dem ich meine Experimente in der Zeit von September 1964 bis Februar 1965 durchführte, stets Mäuse unter standardisierten Bedingungen mit Plasmodium berghei infiziert. Diese Tiere werden bei der normalen Umgebungstemperatur von 22° C gehalten. Da sich zum Zeitpunkt dieser Versuche bei den Kontrolltieren keine Abweichungen von den bereits früher ermittelten Daten über den normalen Infektionsverlauf (KRETSCHMAR, 1961; KRETSCHMAR und JERUSALEM, 1963) ergaben, konnten die publizierten Werte übernommen werden.

VI. ABKÜRZUNGEN

Im weiteren Verlauf des Textes sowie in Tabellen und graphischen Darstellungen werden als Abkürzungen verwendet:

UGT = Umgebungstemperatur

o. Akkl. = ohne Akklimatisation

m. Akkl. = mit Akklimatisation

C. UNTERSUCHUNGEN BEI EINER UMGEBUNGSTEMPERATUR VON 12° C

I. VORVERSUCH

Da kleine Tiere im Verhältnis zu ihrem Körpergewicht über eine relativ große Körperoberfläche verfügen und infolgedessen ihre Körpertemperatur schlechter regulieren können - schon die normale Körpertemperatur der Maus zeigt beträchtliche Schwankungen (nach HAGEMANN und SCHMIDT, 1960, zwischen 37,9° C und 39,2° C) -, mußte zunächst geklärt werden, ob und inwiefern allein durch eine Erniedrigung der Umgebungstemperatur die Körpertemperatur der Versuchstiere beeinflußt wird. Hierfür wurden 24 nichtinfizierte Mäuse über einen Zeitraum von 44 Tagen bei einer Umgebungstemperatur von 12° C unter gleichen Bedingungen wie im Hauptversuch gehalten.

Während die Körpertemperatur der Tiere anfangs nur geringfügig vom Normalwert der NMRI Mäuse von 38,1° C (KRETSCHMAR, 1961) abweicht, liegt sie vom 6. Tage an mit 2 bis 3° C deutlich darunter (Tab. 1). Nach dem 14. Tag steigt sie dann wieder auf ihren Ausgangswert an, der im weiteren Verlauf ziemlich konstant bleibt. Der Temperaturabfall und -anstieg sind statistisch sehr gut gesichert ($p < 0,001$).

Wie das Ergebnis des Vorversuchs zeigt, gelingt es den Mäusen erst nach 2 Wochen, sich der veränderten Umwelttemperatur anzupassen und ihre Körpertemperatur konstant zu halten. Es können daher im Hauptversuch nur Befunde von Mäusen, die mindestens 14 Tage vor Infektion bei der veränderten Umgebungstemperatur gehalten wurden, direkt mit den vom normalen Infektionsverlauf her bekannten Werten verglichen werden.

Tabelle 1

Verhalten der Körpertemperatur (in °C) nichtintifizierter NMRI Mäuse bei einer UGT von 12° C.

=====												
N =	Tage nach Versuchsbeginn											
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
=====												
$\bar{x}$	37,6	37,7	37,5	36,9	34,0	36,6	33,6	36,8	37,5	37,6	37,1	37,5
$s^2_{\bar{x}}$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,3$	$\pm 0,2$	$\pm 0,6$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$
n	(24)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)

	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	
=====												
$\bar{x}$	37,4	37,3	37,6	37,0	37,7	37,7	37,8	37,6	37,8	38,0	37,3	
$s^2_{\bar{x}}$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	
n	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	
=====												

II. HAUPTVERSUCH

1. Versuchsbedingungen

In den Hauptversuch wurden 2 Mäusegruppen mit je 24 Tieren einbezogen; während die erste Gruppe erst nach Infektion mit P1. berghei bei einer Umgebungstemperatur von 12° C gehalten wurde, wurde die zweite Gruppe bereits 15 Tage vor Infektion dieser Umgebungstemperatur ausgesetzt. Die Rektaltemperatur wurde bei allen Tieren täglich vom Tage der Infektion an über einen Zeitraum von 30 Tagen gemessen. Zur Bestimmung der Parasitämie dienten - vom gleichen Zeitpunkt an gerechnet - alle 5 Tage angefertigte Blutaussstriche.

2. Ergebnisse

a) Überlebensdauer und Spontanheilungsquote

Während die Plasmodien-Infektion bei Mäusen im allgemeinen einen tödlichen Verlauf nimmt, unterscheiden sich Mäuse des Stammes NMRI von allen bisher untersuchten mischrassigen Mäusen, reinrassigen Stämmen und Hybriden u.a. dadurch, daß bei ihnen nach Infektion mit P1. berghei Spontanheilungen auftreten. Jedoch hängt die Häufigkeit des Auftretens von Spontanheilungen davon ab, ob die Mäuse während der Erkrankung durch regelmäßig durchgeführte Messungen beunruhigt werden oder nicht (KRETSCHMAR, 1961, 1962, 1965 b). Während bei den mit "Altromin R" ernährten Mäusen ohne Messungen etwa jedes 6. Tier überlebt und die mittlere Überlebenszeit deutlich verlängert ist, überleben von den beunruhigten Mäusen nicht mehr als 1 Prozent die Infektion. Dabei ist es gleichgültig, ob Blutabnahmen oder Temperaturmessungen durchgeführt werden. Dieser Stresseffekt ist also nicht auf eine Schwächung durch Blutverlust zurückzuführen, sondern liegt allein in der Beunruhigung der Tiere durch Ergreifen und Festhalten.

Dem Auftreten von Spontanheilungen und der Überlebensdauer galt daher bei den hier dargestellten Untersuchungen besonderes Interesse, zumal neben der bekannten Wirkung der Beunruhigung durch Temperaturmessung und Blutabnahme in der Senkung der Umgebungstemperatur ein weiterer Stressfaktor anzunehmen war. Die durch die Infektion ohnehin schon geschwächte Widerstandskraft der Maus wurde folglich noch durch zwei weitere Stressituationen strapaziert.

Tabelle 2

Spontanheilungsquote und mittlere Überlebensdauer von Pl. berghei-infizierten NMRI Mäusen bei 12° C UGT im Vergleich zu 22° C UGT

	12° C UGT m. Akkl.	22° C UGT (KRETSCHMAR, 1963)	12° C UGT o. Akkl.
Zahl der inf. Mäuse (N)	24	335	24
Spontanheilungsquote	--	1,2%	29,2%
p	>0,1		<0,001
Zahl der gestorbenen Mäuse (N)	24	331	17
mittlere Überlebensdauer ($\bar{x}$) in Tagen p.i.	15,7	17,3	27,4
Mittlerer Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$)	±0,8	±0,3	±2,5
Minimale und maximale Überlebensdauer in Tagen p.i.	6-23	4-45	14-44
p	>0,05		<0,001

Wie Tabelle 2 zeigt, hängt die Zahl der Spontanheilungen ganz entscheidend davon ab, ob die Tiere vor der Infektion akklimatisiert wurden oder nicht: Während von den akklimatisierten Tieren keine einzige Maus die Infektion überlebte, betrug die Spontanheilungsquote der Tiere ohne Akklimatisation nahezu 30 %. Damit übertreffen sie die Überlebensdauer der Normaltiere, bei denen etwa 1 % Spontanheilungen auftreten, um das 24-fache. Diese Differenz ist statistisch sehr gut gesichert ($p < 0,001$). Dabei ist es bezeichnend, daß eine größere Zahl von Mäusen erst nach Rückkehr zur normalen Umgebungstemperatur zugrun-

de ging. Zumeist starben die Mäuse an den Folgen eines Frührezidivs. Möglicherweise hätten sie die Infektion bei Fortführung der niedrigen Umgebungstemperatur überlebt.

Wie bei den Spontanheilungen beschränkt sich der positive Einfluß der niederen Umgebungstemperatur auch bei der mittleren Überlebensdauer (Tab. 2) nur auf diejenigen Tiere, die nicht akklimatisiert wurden. Während diese mit einer Überlebensdauer von 27 1/2 Tagen die bei 22° C gehaltenen Kontrolltiere (KRETSCHMAR und JERUSALEM 1963) um beinahe 10 Tage im Durchschnitt überlebten, übertrafen sie die akklimatisierten Tiere sogar um 12 Tage, wobei die Unterschiede statistisch hoch gesichert sind ($p < 0,001$).

b) Reinfektion

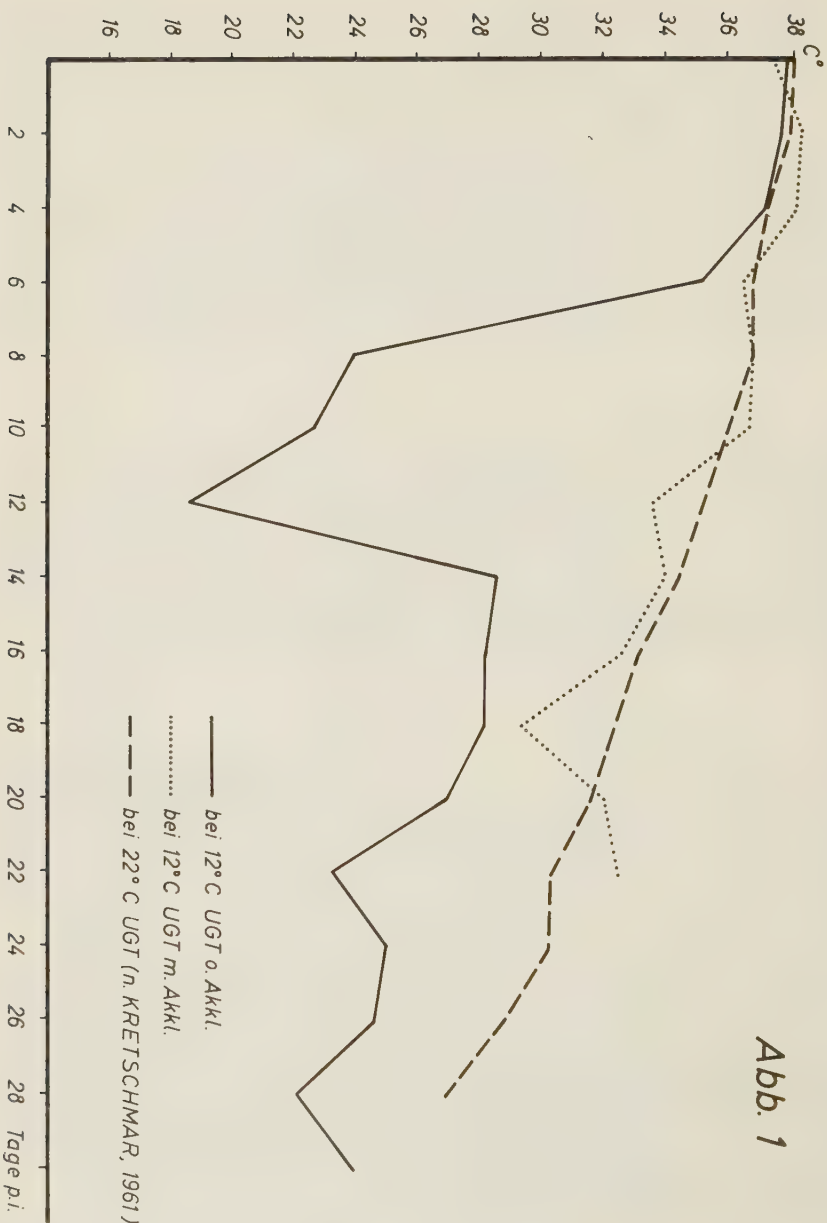
Um zu prüfen, ob die spontangehheilten, bei 12° C gehaltenen Mäuse ebenso wie die bei 22° C gehaltenen nach Überstehen der ersten Infektion eine relative Immunität erworben hatten, die sie weitgehend vor den Folgen einer erneuten Infektion schützt (KRETSCHMAR, 1962), wurden am 60. Tag p.i. alle 7 spontangehheilten Mäuse mit Pl. berghei reinfiziert. Obwohl sie nun bei normalen Umgebungstemperaturen gehalten wurden, überstanden alle Mäuse ohne merkliche Krankheitssymptome die zweite Infektion.

c) Körpertemperatur

Die Auswirkung der Plasmodien-Infektion auf die Körpertemperatur der Wirtstiere wurde schon verschiedentlich untersucht. Während HUFF (1939) an Kanarienvögeln und VRAIN und VRAIN (1955) an mit Pl. berghei-infizierten Ratten keinen Einfluß, der sich als Folge der Infektion hätte deuten lassen, feststellen konnten, berichteten andere Autoren (HEWITT, 1942, bei mit Pl. lophurae-infizierten Enten; NYE, 1961, bei mit Pl. gallinaceum-infizierten Küken; SERGENT und PONCET, 1961, sowie KRETSCHMAR, 1961, bei mit Pl. berghei-infizierten Mäusen) über ein Absinken der Körpertemperatur im Verlauf der Infektion. KRETSCHMAR folgerte sogar aus seinen Untersuchungen, daß das Absinken der Körpertemperatur ein indirekter Gradmesser für das Ausmaß der Parasitämie und damit des Krankheitszustandes der Tiere sei. Demnach sollte es möglich sein, allein durch die Bestimmung der Körpertemperatur den Krankheitsverlauf in der Maus zu verfolgen.

KÖRPERTEMPERATUR

Abb. 1



Nachdem durch den Vorversuch anfängliche Schwankungen der Körpertemperatur unter dem Einfluß erniedrigter Umgebungstemperatur bereits ohne Infektion festgestellt werden konnten, galt das besondere Interesse dem Verhalten der Körpertemperatur der Versuchstiere während der Infektion.

Wie Abb. 1 zeigt, verhalten sich die Temperaturkurven beider bei 12° C gehaltenen Mäusegruppen bis zum 4. Tag p.i. etwa gleich und unterscheiden sich kaum von der Temperaturkurve der bei 22° C gehaltenen Kontrolltiere. Am 5. und 6. Tag p.i. jedoch beginnt die Körpertemperatur der nichtakklimatisierten Versuchstiere deutlich zu sinken und liegt mit 35,3° C bereits um 1,3° C unter den Vergleichswerten der Kontrolltiere. Diese Differenz läßt sich statistisch sehr gut sichern ($p < 0,001$). Nach einem rapiden Temperaturabfall von über 10° C in den nächsten Tagen erreicht die Temperaturkurve im weiteren Verlauf schließlich am 12. Tag p.i. mit einer mittleren Körpertemperatur von 18,7° C ihren tiefsten Punkt (als tiefster Einzelwert wurde etwa 24 Stunden vor dem Tode der Maus am 12. Tag p.i. eine Rektaltemperatur von 13,4° C gemessen). Bis zum 14. Tag p.i. steigt dann die Körpertemperatur der nichtakklimatisierten Tiere wieder um 10° C auf 28° C steil an, erreicht aber nicht annähernd die Temperaturwerte der Kontrolltiere und sinkt im weiteren Verlauf der Infektion kontinuierlich ab.

Demgegenüber verläuft die Temperaturkurve der akklimatisierten Versuchstiere während des gesamten Versuchs weitgehend parallel zu der Kontrollkurve. Statistisch gesicherte Unterschiede ($p < 0,001$) sind außer am 4. Tag p.i., an dem die Körpertemperatur der Versuchstiere gegenüber den Kontrollwerten leicht erhöht ist, nur noch am 12. und 18. Tag p.i. feststellbar. Zu diesem Zeitpunkt ist die Körpertemperatur der Versuchstiere kurzfristig um 2 bis 3° C unter die Kontrollwerte abgesunken.

Ohne vorerst auf die Beziehung zwischen Temperaturabfall und Parasitämie einzugehen, läßt sich bereits jetzt sagen, daß die Annahme, mit alleiniger Bestimmung der Körpertemperatur den Verlauf der Pl. berghei-Infektion in der Maus verfolgen zu können (KRETSCHMAR, 1961), für Versuchstiere, die bei niedriger Umgebungstemperatur (12° C) gehalten werden, nicht zutrifft (wie weiter unten gezeigt wird, ist dies auch bei höheren Umgebungstemperaturen nicht der Fall). Ebensowenig ist ein Temperaturabfall von mehr als 2,5° C innerhalb von 24 Stunden als ziemlich sicherer Hinweis dafür zu werten, daß die Mäuse nicht mehr lange leben werden. Selbst ein Absinken der mittleren Körpertemperatur von über 10° C innerhalb von 24 Stunden (Abb. 1, Tab. 3: 7. und 8. Tag p.i.) wurde von den Mäusen gut überstanden.

KÖRPERTEMPERATUR

Abb. 2

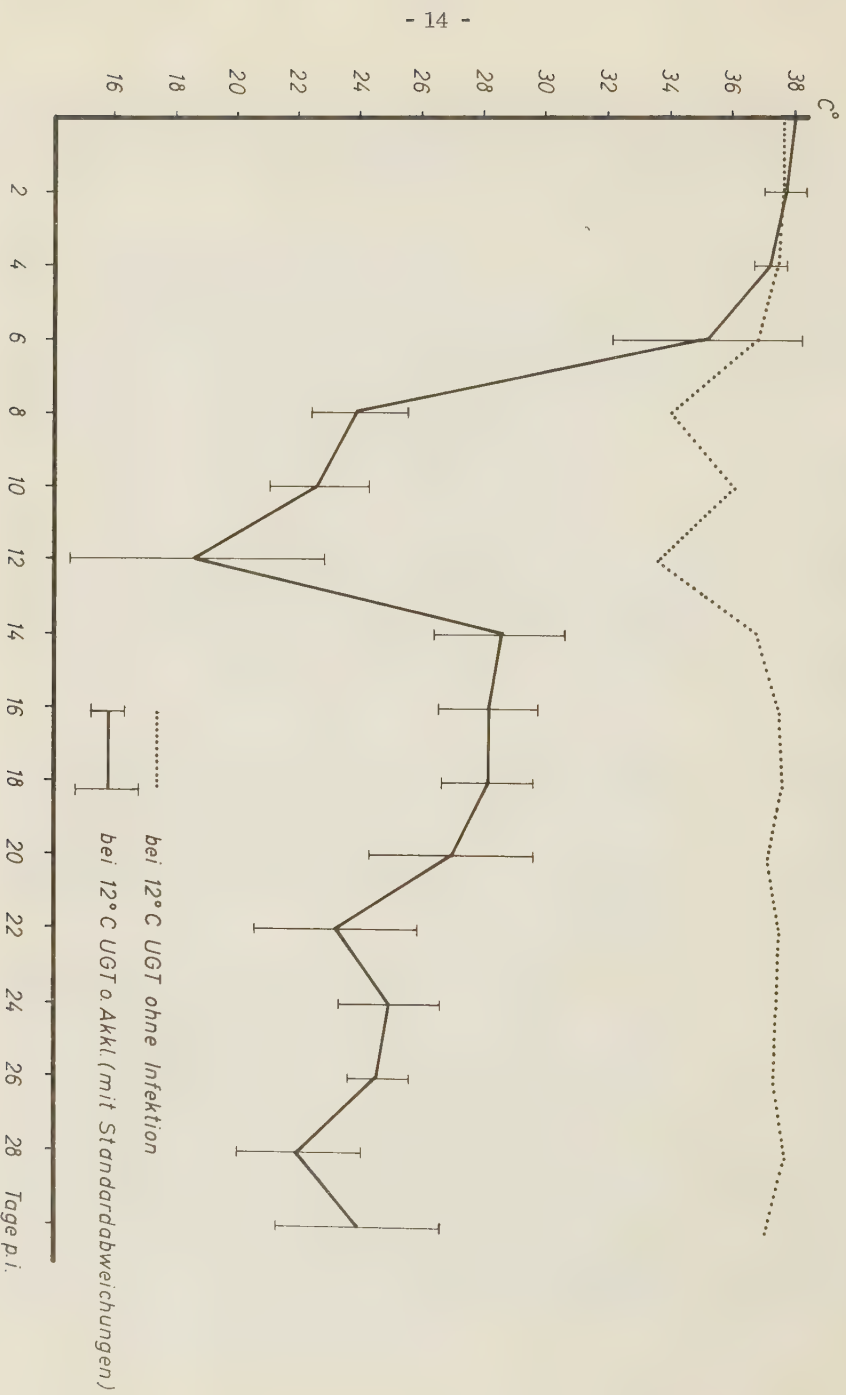


Tabelle 3

Verhalten der Körpertemperatur (in °C) von mit Pl. berghei-infizierten NMRI Mäusen bei einer UGT von 12° C

=====									
Tage p. i.		0	2	4	6	8	10	12	14
=====									
Infektion o. Akkl.	$\bar{x}$	37,9	37,6	37,2	35,3	24,0	22,7	18,7	28,6
	$s_{\bar{x}}$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,4$	$\pm 0,3$	$\pm 0,3$	$\pm 0,9$	$\pm 0,3$
	n	(24)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(48)	(47)

Infektion m. Akkl.	$\bar{x}$	37,5	38,5	38,4	36,5	36,9	36,7	33,7	34,0
	$s_{\bar{x}}$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,4$	$\pm 0,3$
	n	(24)	(48)	(48)	(47)	(46)	(46)	(41)	(28)
=====									
Tage p. i.		16	18	20	22	24	26	28	30
=====									
Infektion o. Akkl.	$\bar{x}$	28,2	28,2	26,9	23,2	24,9	24,6	22,0	23,8
	$s_{\bar{x}}$	$\pm 0,3$	$\pm 0,2$	$\pm 0,4$	$\pm 0,4$	$\pm 0,3$	$\pm 0,2$	$\pm 0,4$	$\pm 0,5$
	n	(46)	(46)	(43)	(38)	(35)	(30)	(28)	(28)

Infektion m. Akkl.	$\bar{x}$	32,6	29,4	31,9	32,4	-	-	-	-
	$s_{\bar{x}}$	$\pm 0,5$	$\pm 1,0$	$\pm 0,5$	$\pm 0,3$	-	-	-	-
	n	(14)	(18)	(7)	(6)	-	-	-	-
=====									

Dagegen lassen sich die aus dem Vorversuch gewonnenen Ergebnisse bestätigen: Während ein Einfluß der erniedrigten Umgebungstemperatur bei den mit Pl. berghei-infizierten Versuchstieren, die vor Infektion einer 15-tägigen Akklimatisation unterworfen wurden, kaum sichtbar wird, tritt er bei den nicht-

akklimatisierten Tieren mit Sicherheit zwischen dem 6. und 14. Tag p.i. in Erscheinung, also ziemlich genau zu dem Zeitpunkt, an dem es den Tieren selbst ohne Infektion nicht möglich ist, ihre normale Körpertemperatur bei Erniedrigung der Umwelttemperatur auf 12° C beizubehalten. Während dieser Zeit liegt nämlich die Körpertemperatur der nichtakklimatisierten Tiere im Durchschnitt um 13 bis 16° C unter den Werten für den normalen Infektionsverlauf bei 22° C UGT (Abb. 1). Ein Vergleich mit dem Vorversuch zeigt (Abb. 2), daß der Temperaturabfall und -anstieg der Körpertemperatur nichtakklimatisierter Versuchstiere zeitlich den bei nichtinfizierten Mäusen beobachteten Temperaturveränderungen entsprechen.

d) Parasitämie und Polychromasie

Zwischen dem Ausmaß der Parasitämie und den Veränderungen des roten Blutbildes besteht ein enger Zusammenhang, da - wie schon bald nach der Entdeckung von Pl. berghei erkannt wurde - die Plasmodien nicht alle Erythrozyten in gleichem Maße befallen. Mit dem Fortschreiten der Parasitämie weist das Blutbild der Maus immer deutlicher die Merkmale einer schweren Anämie mit Anisozytose und Polychromasie auf.

Bei den polychromatischen Zellen handelt es sich um unreife Erythrozyten (Retikulozyten), die sich durch ihre Größe und starke Aufnahme basischer Stoffe auszeichnen (SCHULTEN, 1953). Im Blut der nichtinfizierten erwachsenen Maus beträgt ihr Anteil normalerweise etwa 1 - 2 %. Als Folge der massiven Erythrozytenzerstörung im Laufe der Pl. berghei-Infektion werden massenhaft polychromatische Zellen ins periphere Blut ausgeschwemmt, so daß schließlich bei normalem Infektionsverlauf mehr als die Hälfte der vorhandenen Erythrozyten polychromatisch sind (KRETSCHMAR, 1961).

Von den bei 12° C gehaltenen Mäusen wird nur bei den akklimatisierten Versuchstieren dieses Ausmaß erreicht. Dabei nimmt die Zahl der polychromatischen Erythrozyten (Abb. 3) von Beginn der Infektion beinahe ebenso rasch wie im Normalverlauf zu (am 20. Tag p.i. liegt sie mit 40,8 % polychromatischer Zellen sogar noch etwas darüber). Signifikante Unterschiede zu den Kontrollen lassen sich während des ganzen Verlaufs der Infektion nicht feststellen.

Die Polychromasie der Versuchstiere ohne Akklimatisation dagegen ist zu jedem Zeitpunkt der Infektion auffallend stark vermindert und erreicht bei weitem nicht die von der Normalinfektion her bekannten Werte. So ist der Anstieg der Polychromasie besonders bis zum 20. Tag p.i. sehr verlangsamt. An diesem Tag sind im Blut im Mittel erst 10 % polychromatischer Zellen aufzufinden,

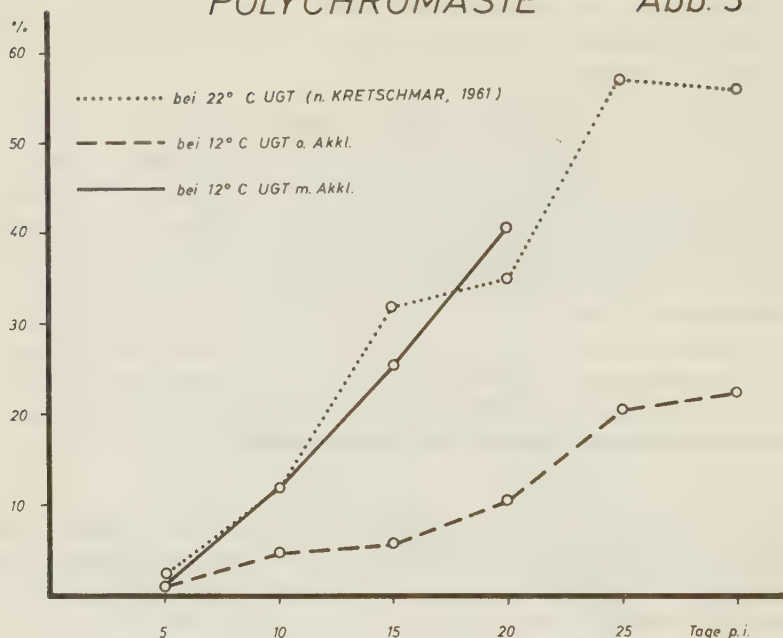
während ihr Anteil bei normaler Infektion zu diesem Zeitpunkt annähernd 35 % beträgt (Unterschiede vom 10. Tag p.i. an statistisch gesichert: $p < 0,001$).

Ein Vergleich der Parasitämie in den erwachsenen und polychromatischen Erythrozyten (Tab. 4) zeigt das von der normalen Infektion her bekannte Bild der für Pl. berghei typischen Bevorzugung jugendlicher Zellen. Dabei liegt die Befallsquote der polychromatischen Erythrozyten sowohl bei akklimatisierten als auch - mit Ausnahme des 10. Tages p.i. (55 %) - bei nichtakklimatisierten Tieren im Durchschnitt zwischen 70 und 95 % und entspricht durchaus den Normalwerten. Demgegenüber bleibt die Parasitämie in den erwachsenen Erythrozyten im Verlauf der Infektion sehr gering und übersteigt - abgesehen vom 5. Tag p.i. (4,1 %) bei den akklimatisierten Tieren - in beiden Versuchsgruppen im Durchschnitt nie 2,5 %. Dieser Prozentsatz wird im normalen Infektionsverlauf (KRETSCHMAR, 1961) nach dem 14. Tage p.i. überschritten und erreicht im Endstadium der Infektion etwa den dreifachen Wert.

Die Gesamtparasitämie der Erythrozyten zeigt demnach infolge des geringen Parasitenbefalls erwachsener Zellen eine direkte Abhängigkeit von der Polychromasie. Ein Vergleich beider graphischer Darstellungen verdeutlicht diese engen Beziehungen (Abb. 3, Abb. 4): Der Anteil der von Plasmodien befallenen Erythrozyten in nichtakklimatisierten Tieren übertrifft ebenfalls erst nach dem 20. Tag p.i. den Mittelwert von 10 % und bleibt erheblich niedriger als im normalen Infektionsverlauf, zu dem die Unterschiede vom 10. Tage p.i. an statistisch hoch gesichert sind ($p < 0,001$). Ebenso zeigt sich ein gleichartiger Anstieg von Gesamtparasitämie und Polychromasie der akklimatisierten Tiere in dem Maße, daß am 20. Tag p.i. annähernd 40 % aller Erythrozyten von Plasmodien befallen sind. Der Verlauf der Parasitämie läßt dabei, wie in Abb. 4 ersichtlich, eindeutige Parallelen zum Normalverlauf erkennen, von dem er sich zu keinem Zeitpunkt der Infektion signifikant unterscheidet.

POLYCHROMASIE

Abb. 3



GESAMTPARASITÄMIE

Abb. 4

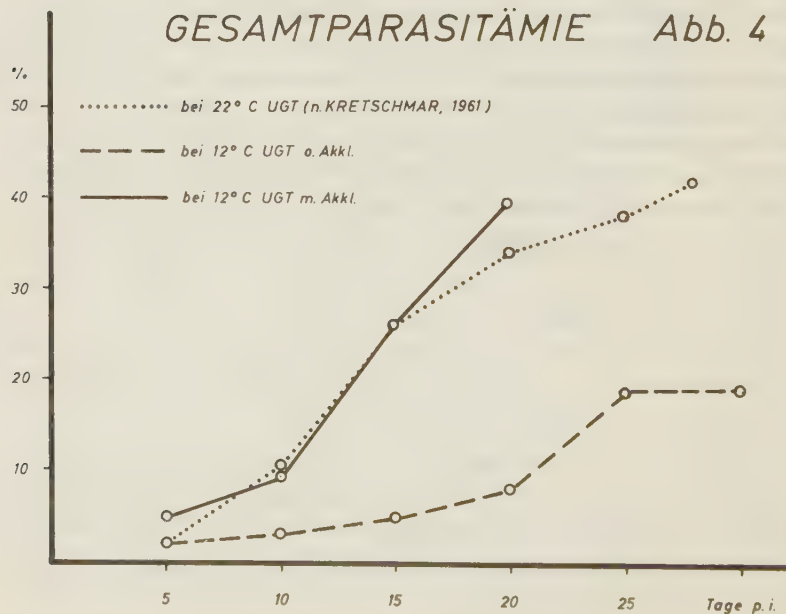


Tabelle 4

Parasitämie und Polychromasie in % von bei 12° C gehaltenen NMRI-Mäusen

Tage p.i.	N=24	o. Akkl.					m. Akkl.				
		5	10	15	20	25	30	5	10	15	20
Parasitierte erwachsene Erythrozyten	$\bar{x}$ $s_{\bar{x}}$ n	1,4 $\pm 0,2$ (24)	0,5 $\pm 0,02$ (24)	0,5 $\pm 0,1$ (23)	0,1 $\pm 0,04$ (23)	0,2 $\pm 0,1$ (15)	0,6 $\pm 0,1$ (14)	4,5 $\pm 0,4$ (24)	1,6 $\pm 0,5$ (18)	2,5 $\pm 1,0$ (14)	0,3 $\pm 0,1$ (3)
Parasitierte polychromatische Erythrozyten	$\bar{x}$ $s_{\bar{x}}$ n	84,8 $\pm 4,3$ (22)	55,0 $\pm 2,9$ (24)	77,5 $\pm 2,3$ (23)	79,7 $\pm 2,2$ (23)	88,7 $\pm 1,6$ (15)	78,5 $\pm 4,0$ (14)	85,4 $\pm 4,9$ (18)	79,1 $\pm 5,6$ (22)	94,9 $\pm 1,0$ (14)	96,7 $\pm 0,7$ (3)
Parasitierte Erythrozyten (gesamt)	$\bar{x}$ $s_{\bar{x}}$ n	2,1 $\pm 0,2$ (24)	3,2 $\pm 0,3$ (24)	4,9 $\pm 0,4$ (23)	8,3 $\pm 0,8$ (23)	18,8 $\pm 1,4$ (15)	18,8 $\pm 2,2$ (14)	4,9 $\pm 0,4$ (24)	9,4 $\pm 1,1$ (22)	26,1 $\pm 1,9$ (14)	39,4 $\pm 6,3$ (3)
Anteil der polychromatischen Erythrozyten	$\bar{x}$ $s_{\bar{x}}$ n	0,9 $\pm 0,1$ (24)	4,8 $\pm 0,3$ (24)	5,8 $\pm 0,4$ (23)	10,4 $\pm 0,8$ (23)	21,4 $\pm 1,8$ (15)	22,4 $\pm 1,9$ (14)	0,5 $\pm 0,1$ (24)	10,2 $\pm 1,2$ (22)	25,3 $\pm 2,8$ (14)	40,8 $\pm 6,6$ (3)

3. Zusammenfassung der Ergebnisse

Betrachtet man die Ergebnisse der Untersuchungen bei 12° C UGT im Zusammenhang, so läßt sich sagen, daß bei den nichtakklimatisierten NMRI-Mäusen ein eindeutiger Einfluß der niederen Umgebungstemperatur auf den Verlauf der Pl. berghei-Infektion nachgewiesen werden kann. Dieser Einfluß manifestiert sich einmal in einem häufigen und regelmäßigen Auftreten von Spontanheilungen, wie dies bisher nur bei Ernährung mit p-Aminobenzoesäure-Mangeldiäten zu erzielen war (JAKOBI und KRETSCHMAR, 1962; KRETSCHMAR, 1964, 1965 b, 1966; KRETSCHMAR und HAAKH, 1964) und in einer deutlichen Verlängerung der mittleren Überlebensdauer derjenigen Mäuse, die der Infektion erliegen, zum andern in einer auffallend starken Verminderung der Gesamtparasitämie und -polychromasie gegenüber dem normalen Infektionsverlauf. Dagegen lassen sich bei akklimatisierten Tieren gesicherte Unterschiede zu den Kontrolltieren (22° C UGT) nicht feststellen.

II. HAUPTVERSUCH

1. Versuchsbedingungen

Im Hauptversuch wurden die Untersuchungen wieder an zwei Versuchsgruppen mit je 24 Mäusen durchgeführt. Während die erste Gruppe erst nach Infektion mit Pl. berghei bei 32 ° C gehalten wurde, wurde die 2. Gruppe bereits 15 Tage vor Infektion dieser Umgebungstemperatur ausgesetzt. Die Versuchsanordnung entsprach dem obigen Versuch.

2. Ergebnisse

a) Überlebensdauer und Spontanheilungsquote

Der Einfluß der höheren Umgebungstemperatur zeigt sich nicht nur in der Tatsache, daß es keiner einzigen Maus gelang, die Folgen der Infektion zu überstehen, sondern vor allem daran, daß die mittlere Überlebensdauer der Tiere beträchtlich verkürzt war (Tab. 6). Auch war es gleichgültig, ob die Versuchstiere bereits 15 Tage vor Infektion bei der höheren Raumtemperatur gehalten wurden oder nicht.

Wie Tab. 6 erkennen läßt, liegt die mittlere Überlebensdauer der akklimatisierten bzw. nichtakklimatisierten Tiere mit 13,5 und 13,9 Tagen deutlich unter der der Kontrolltiere (17,3 Tage). Diese Differenz ist bei den beiden Versuchsgruppen gut ($p < 0,01$) gesichert.

Tabelle 6

Spontanheilungsquote und mittlere Überlebensdauer von Pl. berghei-infizierten NMRI-Mäusen bei 32° C UGT im Vergleich zu 22° C UGT

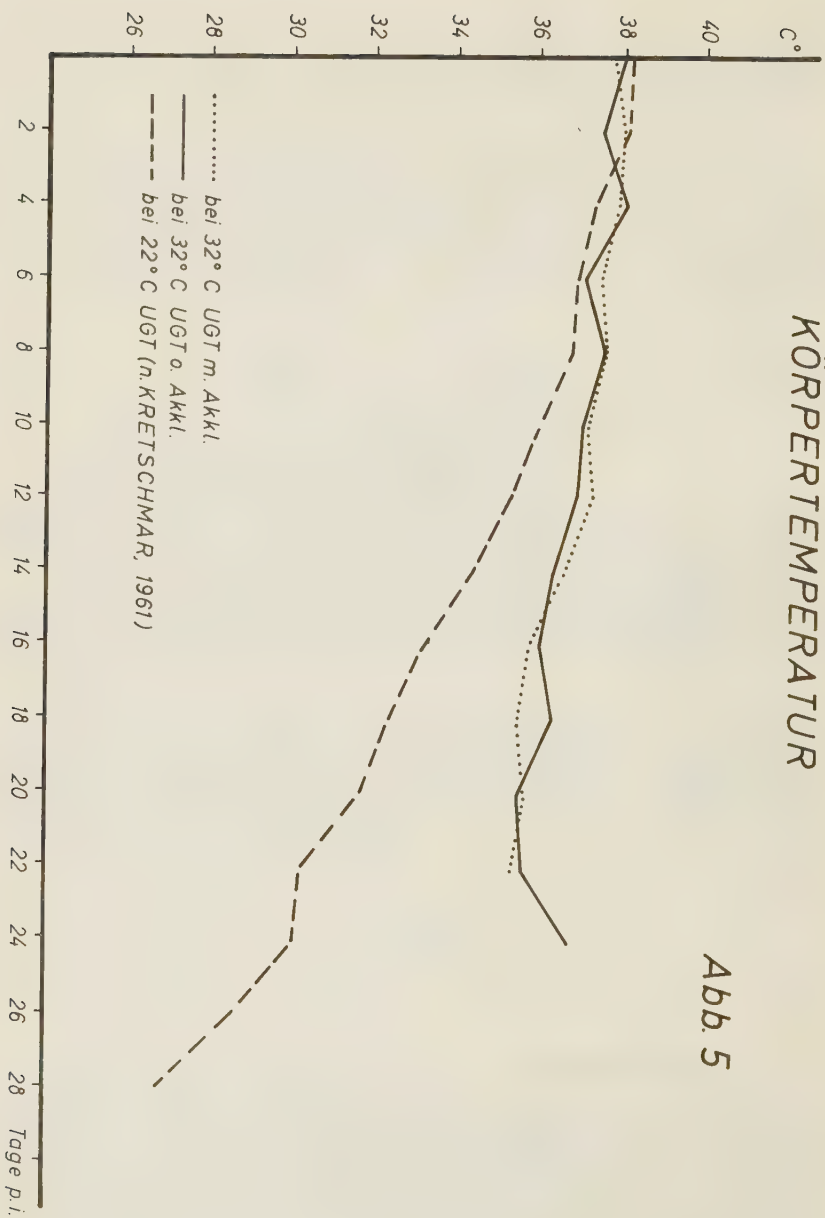
	32° C UGT o. Akkl.	22° C UGT (KRETSCHMAR, 1963)	32° C UGT m. Akkl.
Gesamtzahl aller infiz. Mäuse (N)	24	335	24
Spontanheilungs- quote	--	1,2 %	--
p	> 0,1	> 0,1	
Zahl der gestor- benen Mäuse (N)	24	331	24
mittl. Überlebens- dauer ($\bar{x}$) in Tagen p. i	13,9	17,3	13,5
mittl. Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$)	$\pm 1,2$	$\pm 0,3$	$\pm 0,7$
Min. und max. Überlebensdauer in Tagen p. i.	4 - 24	4 - 45	4 - 18
p	< 0,01	< 0,01	

b) Körpertemperatur

Ein Vergleich der Temperaturkurven zeigt bis zum 10. Tag p. i. bei beiden Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede zu den bei 22° C gehaltenen Kontrollen (Abb. 5). Während jedoch die Körpertemperatur der Kontrolltiere im weiteren Verlauf stärker abfällt, liegen die Temperaturkurven der bei 32° C gehaltenen Versuchstiere sehr eng beieinander und unterscheiden sich

KÖRPERTEMPÉRATUR

Abb. 5



erst nach dem 12. Tag p.i. wesentlich vom Ausgangswert, den sie auch drei Wochen nach Infektion erst um etwa 2,5° C unterschritten haben. Die höhere Durchschnittstemperatur der bei 32° C gehaltenen Tiere ist gegenüber dem Temperaturverlauf bei normaler Infektion vom 10. Tag p.i. an statistisch sehr gut gesichert ($p < 0,001$).

Insgesamt müßte nach dem Vergleich der Temperaturkurven - bei Beurteilung des Krankheitsverlaufs nach der Körpertemperatur der Versuchstiere (KRETSCHMAR, 1961) - der positive Einfluß einer höheren Umgebungstemperatur als erwiesen angesehen werden. Es wird noch zu diskutieren sein, inwieweit sich diese Widersprüchlichkeit zu den Ergebnissen der Überlebensdauer der Versuchstiere erklären läßt. Offensichtlich ist es jedoch auch bei Untersuchungen unter solchen extremen Umweltbedingungen nicht möglich, durch alleinige Bestimmung der Rektaltemperatur genaue Aussagen über den Krankheitsverlauf im Versuchstier zu machen.

c) Parasitämie und Polychromasie

Wie in Abb. 7 gut zu erkennen ist, entspricht die Höhe der Gesamtparasitämie beider Versuchsgruppen im Verlauf der Infektion weitgehend den Kontrollwerten. Zwar ist die Parasitämie in den beiden Gruppen am 5. Tag p.i. signifikant erhöht ($p < 0,01$), liegt jedoch mit etwa 2 % nur geringfügig über den Kontrollen. ebenso unterscheidet sich die Befallsquote der Erythrozyten bei nichtaklimatisierten Tieren - im Gegensatz zu den akklimatisierten Tieren - am 10. Tag p.i. mit etwa 5 % noch signifikant ($p < 0,01$) von den Normalwerten, steigt jedoch bis zum 15. Tag p.i. um das Fünffache auf etwa 32% steil an und liegt sogar im weiteren Verlauf - ebenso wie die Parasitämie bei den akklimatisierten Tieren - weit über dem Normalwert. Die Unterschiede zu den Kontrolltieren lassen sich aber infolge der geringen Anzahl der zu diesem Zeitpunkt noch lebenden Mäuse bei beiden Versuchsgruppen statistisch nicht mehr sichern.

Die Auswertung der Blutausstriche (Tab. 8) ergab bei beiden Versuchsgruppen einen so hohen prozentualen Befall der polychromatischen Zellen mit Plasmodien (70 - 90 %), daß - wie im normalen Infektionsverlauf - ein direkter Zusammenhang zwischen Polychromasie und Parasitämie offensichtlich wird (Abb. 6 und 7).

In beiden Versuchsgruppen nimmt die Polychromasie im Verlauf der Infektion rasch zu und unterscheidet sich - mit Ausnahme des 10. Tages p.i. bei den nichtaklimatisierten Tieren - nur unwesentlich vom Normalverlauf

Tabelle 7

Verhalten der Körpertemperatur (in °C) von mit Pl. berghel-infizierten NMRI-Mäusen bei einer UGT von 320°C

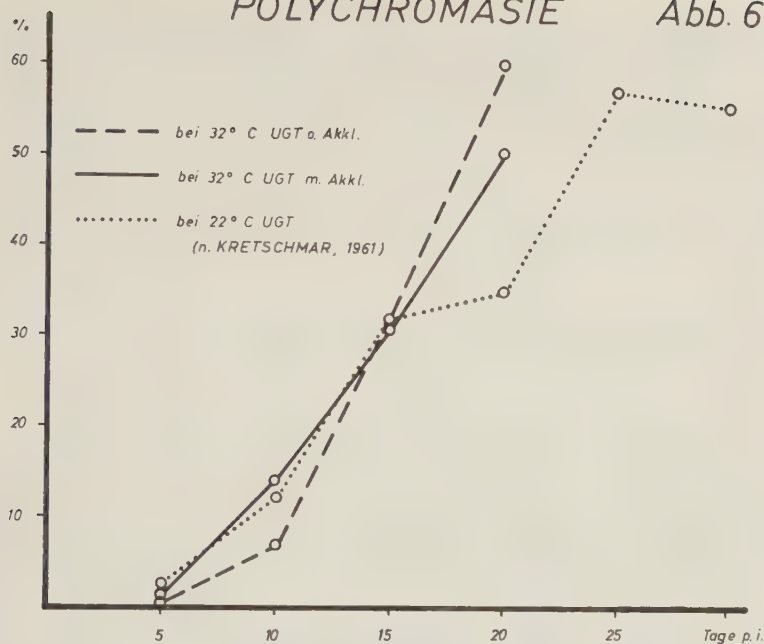
Tage p.i.	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24

Infektion o. Akkl.	$\bar{x}$	38,0	37,5	38,1	37,1	37,6	37,1	37,0	36,4	36,0	36,4	35,6	35,6
	$s_{\bar{x}}$	$\pm 0,2$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,3$
	n	(24)	(48)	(48)	(39)	(36)	(36)	(35)	(28)	(18)	(14)	(10)	(4)

Infektion m. Akkl.	$\bar{x}$	37,8	38,0	37,9	37,5	37,6	37,2	37,3	36,6	35,8	35,5	35,7	35,4
	$s_{\bar{x}}$	$\pm 0,2$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,1$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,5$	$\pm 0,2$	$\pm 0,0$
	n	(24)	(48)	(48)	(46)	(46)	(46)	(35)	(20)	(12)	(4)	(2)	(2)

POLYCHROMASIE

Abb. 6



GESAMTPARASITÄMIE

Abb. 7

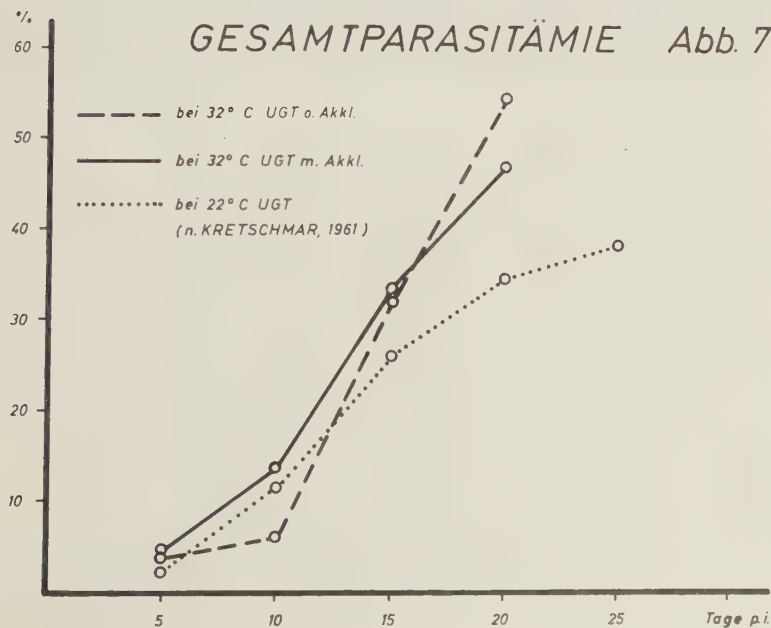


Tabelle 8

Parasitämie und Polychromasie in % von bei 32° C gehaltenen NMRI-Mäusen

Tage p.i.	5	10	15	20	5	10	15	20
Parasitierte erwachsene Erythrozyten	$\bar{x}$ 3,8 $s\bar{x}$ $\pm 0,4$ n (20)	1,1 $\pm 0,4$ (18)	5,0 $\pm 1,4$ (10)	7,2 $\pm 3,0$ (6)	4,1 $\pm 0,4$ (22)	0,9 $\pm 0,02$ (22)	1,4 $\pm 0,5$ (8)	1,9 -,- (1)
Parasitierte polychromatische Erythrozyten	$\bar{x}$ 91,7 $s\bar{x}$ $\pm 5,6$ n (10)	77,4 $\pm 1,8$ (18)	88,3 $\pm 3,3$ (10)	87,1 $\pm 8,2$ (6)	89,8 $\pm 3,1$ (20)	94,3 $\pm 1,5$ (22)	93,2 $\pm 2,9$ (8)	86,0 -,- (1)
Parasitierte Erythrozyten (gesamt)	$\bar{x}$ 4,0 $s\bar{x}$ $\pm 0,4$ n (20)	6,1 $\pm 0,7$ (18)	32,3 $\pm 5,1$ (10)	54,8 $\pm 4,4$ (6)	4,6 $\pm 0,4$ (22)	13,7 $\pm 1,8$ (22)	30,5 $\pm 3,7$ (8)	47,0 -,- (1)
Anteil der polychromatischen Erythrozyten	$\bar{x}$ 0,3 $s\bar{x}$ $\pm 0,2$ n (20)	6,7 $\pm 0,6$ (18)	32,3 $\pm 4,2$ (10)	60,3 $\pm 2,0$ (6)	0,8 $\pm 0,04$ (22)	13,8 $\pm 1,9$ (22)	31,0 $\pm 3,7$ (8)	50,4 -,- (1)

(Abb. 6). An diesem Tage sind zwar mit 6,7 % nur etwas mehr als die Hälfte der normalerweise zu diesem Zeitpunkt im Blut anzutreffenden polychromatischen Zellen vorhanden, doch zeigt der anschließend rasche Anstieg der Polychromasie, daß die bei normaler Infektion stattfindende massenhafte Ausschwemmung unreifer Zellen nicht ausbleibt. Mit etwa 60 % polychromatischer Zellen wird der Kontrollwert am 20. Tag p.i. sogar noch um 26 % übertroffen, was sich statistisch sichern läßt ($p < 0,01$). Dagegen läßt sich bei den akklimatisierten Tieren zu keinem Zeitpunkt der Infektion ein signifikanter Unterschied zu den von der Normalinfektion her bekannten Werten der Polychromasie feststellen.

3. Zusammenfassung der Ergebnisse

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Ablauf der Pl. berghei-Infektion in Mäusen des Stammes NMRI durch eine Erhöhung der Umgebungstemperatur offensichtlich beschleunigt wird. Dabei nimmt die Infektion in akklimatisierten und nichtakklimatisierten Tieren annähernd den gleichen Verlauf. Sämtliche Mäuse, die bei 32° C gehalten wurden, erliegen innerhalb einer relativ kurzen Frist der Infektion, obgleich bei ihnen die Körpertemperatur nur wenig den Ausgangswert unterschreitet und das Ausmaß der Parasitämie nur geringfügig von den im normalen Infektionsverlauf (22° C) ermittelten Werten abweicht.

E. DISKUSSION

Im Gegensatz zu den zahlreichen Veröffentlichungen über die Temperaturabhängigkeit der Plasmodien-Entwicklung in der Mücke, liegen über eine solche im Warmblüter bis heute nur vereinzelte und widersprechende Angaben vor. Ihr Vergleich mit den Ergebnissen der von mir durchgeführten Untersuchungen führt dabei nur in einigen Fällen zu einer Übereinstimmung:

SERGEANT und PONCET (1961) berichteten, daß 6 bei einer Umgebungstemperatur von 37°C gehaltene Mäuse einer Infektion mit Pl. berghei bis zu 10 Tagen früher erlagen als 6 bei 24°C gehaltene Tiere.

In entsprechenden Versuchen fand McGHEE (1959), daß die Lebensdauer von 6 mit Pl. cathemerium-infizierten Hühnerembryonen bei einer Umgebungstemperatur von 30°C gegenüber 37°C bis zu 6 Tagen verlängert und die Parasitämie deutlich vermindert war. Nach Auffassung McGHEE's soll die Verminderung der Parasitämie bei niederer Umgebungstemperatur auf Änderungen im Parasitenenzymssystem oder der Erythrozytenmembran beruhen, wodurch die Fähigkeit der Parasiten, in neue Wirtszellen einzudringen, herabgesetzt wird. Ferner wird noch der Mangel eines für die Entwicklung der Parasiten notwendigen Stoffwechselproduktes diskutiert.

BASU und seine Mitarbeiter (1962) beobachteten eine Verminderung der Parasitämie bei Pl. berghei-infizierten Ratten nur unter der Bedingung, daß die Körpertemperatur der Versuchstiere am Tage der Infektion und einen Tag danach durch kurzfristiges Eintauchen in Eiswasser für mehrere Stunden auf ca. 20°C gesenkt worden war. Allerdings wurden die Tiere vor dem Eintauchen mit Largactil behandelt, damit eine Senkung der Körpertemperatur durch das Eiswasser in diesem Ausmaß erfolgen konnte. Als Folge der niederen Wirtstemperatur nehmen die Autoren eine Schädigung einzelner labiler Parasiten an, die als anti-gener Stimulus für das frühe Auftreten einer Immunität verantwortlich gemacht werden könnten.

In einem anderen Versuch fanden BASU et al. (1962) gleichfalls eine Verminderung der Parasitämie bei Pl. berghei-infizierten Ratten, wenn deren Körpertemperatur am 7. und 8. Tag p.i. durch Injektion von TAB (Typhoid paratyphoid

A + B Vaccine) für einige Stunden um 1 bis 2° C erhöht wurde.

NYE (1961) prüfte ihrerseits an 3 mit *Pl. gallinaceum*-infizierten Küken die Wirkung eines kalten Wasserbades, das die Körpertemperatur der Tiere auf 30° C gesenkt hatte. Einen Einfluß der erniedrigten Körpertemperatur auf den Infektionsverlauf konnte sie jedoch nicht mit Sicherheit feststellen. Die Autorin führt dies vor allem auf eine zu kurze Kühlungszeit der Versuchstiere zurück.

Die von NYE und BASU et al. angewandte Methode, eine Senkung der Körpertemperatur durch eine erniedrigte Umgebungstemperatur in Form eines kalten Wasserbades herbeizuführen, muß unzulänglich erscheinen, da dieser Behandlung von Seiten der Versuchstiere zu enge zeitliche Grenzen gesetzt sind. Aus dem gleichen Grunde ist auch der Versuch von BASU, die Entwicklung der Parasiten an *Pl. berghei*-infizierten Ratten zu beobachten, deren Körpertemperatur nur für wenige Stunden durch Injektion von TAB erhöht wurde, mit Skepsis zu betrachten.

Die Ergebnisse der von mir unter exakten Versuchsbedingungen durchgeführten Untersuchungen mit *Pl. berghei*-infizierten Mäusen des Stammes NMRI unterscheiden sich in ihrer Eindeutigkeit von allen bisherigen Veröffentlichungen. Eine Abhängigkeit des Verlaufs der *Pl. berghei*-Infektion im Warmblüter von der Umgebungstemperatur kann sowohl unter dem Einfluß erniedrigter (12° C) wie erhöhter (32° C) Umgebungstemperatur nachgewiesen werden. Allerdings macht sich bei den bei 12° C gehaltenen Tieren ein Einfluß in Form einer Hemmung der Parasitenentwicklung nur dann geltend, wenn die Tiere keiner vorherigen Akklimatisation unterworfen werden.

Daß auch an Plasmodien-infizierten Mücken durch Erniedrigung der Umgebungstemperatur eine Verlangsamung der Parasitenentwicklung herbeigeführt werden kann, ist seit langem bekannt. Hier handelt es sich eindeutig um den direkten Einfluß eines Temperaturfaktors auf das Wachstum der Parasiten.

Bei der malaraiinfizierten nichtakklimatisierten Maus sprechen jedoch folgende Tatsachen gegen einen direkten Einfluß der auf 12° C gesenkten Umgebungstemperatur auf die Plasmodien-Entwicklung: Zum einen handelt es sich bei der Maus nicht wie bei der Mücke um ein wechselwarmes Tier, sondern um einen Warmblüter mit einer Körpertemperatur von etwa 38° C, zum andern zeigt die Untersuchung des Blutbildes (Tab. 4) der bei 12° C gehaltenen infizierten Mäuse die üblich hohe Befallsquote der polychromatischen Zellen mit Plasmodien.

Da im normalen Verlauf der *Pl. berghei*-Infektion die jugendlichen Erythrozy-

ten in typischer Weise bevorzugt von den Plasmodien befallen werden, kann man mit einiger Sicherheit sagen, daß das Ausmaß der Parasitämie etwa von der Anzahl der vorhandenen polychromatischen Zellen bestimmt wird. Die Abhängigkeit der Parasitämie von der Polychromasie spiegelt sich auch im Blutbild (Abb. 3 und 4) der bei 12° C gehaltenen Mäuse deutlich wider. Während das Blut dieser Tiere zwar eine stark verminderte Gesamtzahl von polychromatischen Zellen aufweist, zeigt der Parasitenbefall dieser Zellen jedoch die übliche Höhe von 70 bis 90 %, so daß dieser Befund eine Hemmung der Parasitenentwicklung durch einen direkten Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Plasmodien wenig glaubhaft erscheinen läßt.

Vielmehr scheint der eigentlich hemmende Faktor für die Vermehrung der Parasiten in dem verminderten Angebot von polychromatischen Erythrozyten zu liegen. Als Ursache für eine unter dem Einfluß der niederen Umgebungstemperatur herabgesetzte Fähigkeit zur Blutneubildung sind folgende Mechanismen denkbar:

1. eine direkte Einwirkung auf die Blutbildung in den Röhrenknochen,
2. eine indirekte Einwirkung auf die Erythropoese durch Absinken der Körpertemperatur auf so niedrige Werte, daß es neben der Einschränkung aller Stoffwechselvorgänge auch zu verminderter Erythropoese kommt.

Eine direkte Einwirkung der erniedrigten Umgebungstemperatur auf die Blutbildung in den Röhrenknochen der Maus, in denen nach Untersuchungen von HUGGINS et al. (1939) die Temperatur gegenüber dem Kern immer um einige Grad Celsius tiefer liegt, kann kaum von Bedeutung sein, da bei der Maus nach Infektion mit Pl. berghei die Milz das Hauptorgan für die Blutbildung ist (KRETSCHMAR und JERUSALEM, 1963). Auch zeigt sich bei den unter gleichen Temperaturbedingungen gehaltenen akklimatisierten Tieren keine Hemmung der Erythropoese.

Dagegen könnte eine indirekte Einwirkung der erniedrigten Umgebungstemperatur auf die Erythropoese im Verlauf der Pl. berghei-Infektion im Zusammenhang mit folgenden Vorgängen zustandekommen: Homoiotherme Tiere verfügen über ein kompliziertes System von Regelmechanismen, mit deren Hilfe sie innerhalb bestimmter Grenzen trotz schwankender Außenwelttemperatur ihre normale Körpertemperatur aufrecht erhalten können. Dabei spielt das Hypothalamusgebiet nach heutiger Auffassung die führende Rolle innerhalb dieser Regulationsvorgänge.

Eine erniedrigte Umgebungstemperatur bedeutet für ein homoiothermes Tier demnach einen Eingriff in die natürliche Regelgröße, was durch gesteigerte Stoff-

wechseltätigkeit ausgeglichen werden muß. Bei den Versuchstieren zeigt sich dies vor allem in einem deutlich zunehmenden Kältezittern und in der Tatsache, daß durch die hierbei vermehrte Wärmebildung die Körpertemperatur der Tiere bis zum 5. Tag nach Versuchsbeginn konstant gehalten werden kann (Abb. 1). Im weiteren Infektionsverlauf sinkt die Körpertemperatur jedoch trotz ständig steigendem Stoffwechsel ab. Dies gilt nicht nur für die infizierten Versuchstiere, die bei erniedrigter Umgebungstemperatur gehalten werden, sondern - wie der Vorversuch zeigt (Tab. 1) - auch für die nichtinfizierten, unter sonst gleichen Bedingungen lebenden Mäuse.

Doch spiegeln sich in der Art des Temperaturabfalls dieser beiden Tiergruppen ganz deutlich die Grenzen eines Organismus wider, einen Umweltfaktor wie die erniedrigte Umgebungstemperatur regulierend in Korrelation mit dem Stoffwechsel zu bringen. Während es den Mäusen ohne Infektion bei 12° C Umwelttemperatur gelingt, durch starke Wärmebildung ihre Körpertemperatur etwa 2 bis 3 ° C unter dem Ausgangswert konstant zu halten (Abb. 2) und damit echte regulatorische Gegenmaßnahmen zu treffen, lassen die infizierten und bei 12° C gehaltenen Tiere im weiteren Verlauf alle Zeichen einer echten Regulation vermissen, indem sie innerhalb weniger Tage einen Sturz ihrer Rektaltemperatur bis auf 18° C erleiden. Somit kann man allein den Einfluß der Infektion für dieses unterschiedliche Verhalten verantwortlich machen.

Schon in den ersten Tagen des Infektionsverlaufs kommt es zu einer starken Blutzerstörung (KRETSCHMAR, 1961), die bei den Versuchstieren zu einer Anämie und damit verbundenem hypoxämischen Zustand führt. Nach Untersuchungen von HÜLLENHAGEN (1944) sowie FRANK und WEZLER (1948), GOEBEL et al. (1951), FLÜCKIGER und VERZAR (1952), FLÜCKIGER (1953) soll aber ein O₂-Mangelzustand eine Störung in der Temperaturregulation nach sich ziehen. Diese Erfahrung deckt sich mit meiner Beobachtung, wonach die durch die Infektion anämisch gewordenen Mäuse bei erniedrigter Umgebungstemperatur nicht mehr zu einer ausreichenden Regulation ihrer Körpertemperatur imstande sind, was sich deutlich in dem rapiden, unregulierten Temperaturabfall von mehr als 10° C innerhalb 48 Stunden am 7./8. Tag p. i. zeigt (Abb. 1).

Doch scheint eine Beeinträchtigung der Temperaturregulation im O₂-Mangel nur bei niedriger Umgebungstemperatur ohne vorherige Akklimatisation der Versuchstiere einzutreten, da - wie PICKOTKA et al. (1955 a) in Versuchen an Meerschweinchen nachweisen konnten - die Körpertemperatur der Tiere im Behaglichkeitsbereich (22° C) bei O₂-Mangel geregelten Bewegungen folgt. So zeigen die von mir sowohl bei 32° C als auch mit vorheriger Akklimatisa-

tion bei 12° C durchgeführten Untersuchungen an zunehmend hypoxämischen Mäusen keinerlei Zeichen einer Regulationsstörung.

Sobald die bei 12° C gehaltenen nichtaklimatisierten Mäuse aber infolge ihres stark anoxämischen Zustandes in das Stadium der unzulänglichen Temperaturregulation eingetreten sind, werden sie durch ihre abgesunkene Körpertemperatur, die sicherlich nur wenige Grad Celsius über der Letaltemperatur liegt - bei Ratten 13-15° C (ADOLPH, 1948) - zu einer weitgehenden Herabsetzung ihres Stoffwechsellniveaus gezwungen. Die Mäuse folgen hier der RGT-Regel (Reaktionsgeschwindigkeit-Temperatur-Regel), derzufolge mit der Senkung der Körpertemperatur ein entsprechendes Absinken des O₂-Verbrauchs und somit der Verbrennungsprozesse im Organismus einhergeht (GOEBEL, 1951).

Da die Einschränkung der Lebensvorgänge sämtliche Stoffwechselbereiche umfaßt, wird von diesem Gesichtspunkt aus die Hemmung der Erythropoese verständlich. Es ist geradezu bezeichnend, daß in der Zeit vom 10. bis 15. Tag p.i., in welcher die mittlere Körpertemperatur der Versuchstiere am 12. Tag p.i. mit 18,7° C ihren tiefsten Punkt erreicht, der Anteil der polychromatischen Zellen, welcher als Maß der Blutneubildung gilt, nur um 1 % ansteigt (Abb. 3 und Tab. 4), während er im gleichen Zeitraum des normalen Infektionsverlaufs (bei 22° C UGT) um mehr als 20 % ansteigt.

Wenn im weiteren Verlauf der Infektion die Zahl der polychromatischen Erythrozyten im Blut ebenfalls zunimmt (Abb. 3), jedoch bei weitem nicht die Werte des Normalverlaufs erreicht, so dürfte diese leichte Steigerung der Erythropoese mit der nun einsetzenden Kälteakklimatisation der Versuchstiere und der damit verbundenen Hebung des Stoffwechsellniveaus im Zusammenhang stehen. Wie der Vorversuch zeigt (Tab. 1), dauert nämlich eine langfristige hormonale Umstellung des Organismus auf die niedrige Umgebungstemperatur mindestens 14 Tage. Das macht auch den Anstieg der Körpertemperatur am 14. Tag p.i. (Abb. 2) verständlich.

Letztlich sind die geschilderten Vorgänge für die Überlebensaussichten der mit Pl. berghei-infizierten Versuchstiere von großer Bedeutung. Wie die von mir durchgeführten Untersuchungen zeigen, ist nämlich nicht nur die mittlere Überlebenszeit von malariainfizierten Mäusen bei einer Umgebungstemperatur von 12° C gegenüber der normalen Raumtemperatur (22° C) um 10 Tage verlängert, sondern es wird auch die Spontanheilungsquote der Kontrolltiere um das 24-fache übertroffen.

Nach den Ergebnissen der hier dargestellten Untersuchungen dürfte die Ursache für die besseren Überlebensaussichten malariainfizierter Mäuse, die ohne vorherige Akklimatisation einer Umgebungstemperatur von nur 12° C ausgesetzt wer-

den, in einem Zusammenspiel zweier entscheidender Faktoren begründet liegen:
zum einen auf der indirekten Hemmung der Parasitenentwicklung durch eine verminderte Erythropoese und daraus resultierendem schwächeren Blutverlust, was oben bereits diskutiert wurde, und zum andern auf einem bei tiefer Körpertemperatur geringeren O_2 -Bedarf, auf Grund dessen der O_2 -Mangel der anämischen Maus besser toleriert werden kann.

Für die Deutung des geringeren O_2 -Bedarfs bietet sich die Beobachtung von GOEBEL (1951) an, derzufolge sich bei Ausfall der Wärmeregulation die Maus im O_2 -Mangel wie ein heterothermes Tier verhält und nach der RGT-Regel bei sinkender Körpertemperatur den O_2 -Verbrauch senkt. Diese Annahme deckt sich auch mit der Vorstellung zahlreicher Autoren (KRAMER und REICHEL, 1944; PENROD, 1949; BIGELOW et al., 1950; ROSENHAIN und PENROD, 1951; GÄNSHIRT et al., 1954; HEGNAUER und D'AMATO, 1954), wonach die O_2 -Versorgung der Gewebe im gesamten Bereich der Hypothermie bis zu den tiefsten Unterkühlungen normal bleibt, da offenbar O_2 -Angebot und O_2 -Bedarf parallel absinken. Damit scheidet ein O_2 -Mangel entgegen der Meinung von WERZ (1943, 1954) und WERZ und LUTZ (1951) als primäre Todesursache bei Hypothermie aus.

Auf Grund dieser Beobachtungen dürfte das Stoffwechselgeschehen der anämischen Mäuse, deren Körpertemperatur bei niedriger Umgebungstemperatur infolge einer Störung der Temperaturregulation tief abgesunken ist, der O_2 -Mangel besser tolerieren als bei höherer Körpertemperatur.

Auch zeigen Versuche von ALDERS und WERTHEIMER (1930) an künstlich unterkühlten Mäusen, daß die Toleranz der Tiere gegenüber dem O_2 -Mangel mit absinkender Körpertemperatur erheblich zunimmt.

Daß es unter dem Einfluß erniedrigter Umgebungstemperatur und damit relativ niedriger Parasitämie bei einigen Mäusen zu einer Verlängerung der Überlebenszeit, aber nicht zu einem Überleben der Infektion kommt (Tab. 2), könnte auf ein Versagen der Herztätigkeit infolge der tiefen Körpertemperatur zurückzuführen sein (GROSSE - BROCKHOFF et al., 1943; HATERIUS und MAISON, 1948; HEGNAUER et al., 1951; COVINO et al., 1954).

Dagegen ist das Auftreten des Frührezidivs, an dem eine größere Zahl von Mäusen erst nach Rückkehr zur normalen Umgebungstemperatur ($22^{\circ}C$) zugrunde ging, als Auswirkung der höheren Umwelttemperatur und des damit verbundenen Anstiegs der Körpertemperatur zu betrachten. Als Folge der ansteigenden Körpertemperatur kann nämlich durch Hebung des Stoffwechselniveaus eine zunehmende Blutneubildung mit gleichzeitigem Anstieg der Parasitämie angenom-

men werden. Möglicherweise hätten die Mäuse die Infektion bei Fortführung der niederen Umgebungstemperatur überlebt.

Im Gegensatz zu den nichtakklimatisierten Tieren lassen die akklimatisierten NMRI - Mäuse überraschenderweise keinen sicheren Einfluß der niederen Umgebungstemperatur (12°C) auf den Verlauf der Pl. berghei-Infektion erkennen und unterscheiden sich bezüglich der Körpertemperatur (Abb. 1) sowie der Überlebensdauer (Tab. 2) und des Blutbildes (Tab. 4) nicht wesentlich von den bei 22°C gehaltenen Kontrolltieren. Eine auffallende Verbesserung der Überlebenschance bei den nichtakklimatisierten Mäusen ist bei den Tieren mit Akklimatisation nicht zu beobachten. Dieses unterschiedliche Verhalten der beiden bei 12°C gehaltenen Versuchsgruppen kann folglich nur auf das Akklimatisationsgeschehen zurückzuführen sein.

Bei der Kälteakklimatisation handelt es sich im Gegensatz zu den schnellen Regelungsvorgängen, die in Sekunden bis Stunden über nervöse Steuerungen ablaufen, um einen langfristigen hormonal ausgelösten Umstellungsprozeß, sofern sich der Organismus über eine längere Zeitspanne hinweg mit der niederen Umgebungstemperatur auseinandersetzt. Wie der Vorversuch zeigt (Tab. 1), dauert diese hormonal bedingte Umstellung des Organismus, an der nach heutiger Auffassung neben Hypophyse auch Schilddrüse und Nebennierenrinde maßgebend beteiligt sind, mindestens 14 Tage und ist somit bereits vor Infektion der Versuchstiere vollzogen.

Zwar können jetzt die Mäuse im akklimatisierten Zustand ihre Körpertemperatur unter dem Einfluß der niederen Umgebungstemperatur während des gesamten Infektionsverlaufs viel besser regulieren als die Versuchstiere ohne Akklimatisation, die einen enormen, unregulierten Temperatursturz erleiden (Abb. 1), doch scheint sich gerade diese Tatsache sehr ungünstig auf den weiteren Infektionsverlauf auszuwirken:

Da sich die Körpertemperatur der akklimatisierten Tiere ähnlich wie im Normalverlauf verhält (Abb. 1), kommt es offenbar auch zu keiner Hemmung der Erythropoese, was die dem Normalverlauf entsprechende hohe Polychromasie der akklimatisierten Mäuse bestätigt (Abb. 3). Infolge der für Pl. berghei typischen Bevorzugung polychromatischer Erythrozyten entwickelt sich daher bei den akklimatisierten Mäusen eine zunehmende Parasitämie. Gleichzeitig leiden diese Tiere mit Zunahme der Anämie unter echten hypoxämischen Zuständen, da sie sich im Vergleich zu den nichtakklimatisierten Mäusen auf Grund der relativ höheren Körpertemperatur auf einem entsprechend höheren Stoffwechselniveau mit größerem O_2 -Bedarf befinden.

Ein zusätzlich begünstigender Faktor für das Ansteigen der Parasitämie ließe sich auch mit Beobachtungen von HUGHES und TATUM (1956) erklären, wonach Pl. berghei-infizierte Ratten bei O_2 -Mangel eine signifikante Schwächung ihrer Abwehrfunktionen erfahren sollen.

Im Gegensatz zu den bei $12^{\circ}C$ durchgeführten Untersuchungen zeigen sich bei einer Umgebungstemperatur von $32^{\circ}C$ keinerlei Unterschiede zwischen dem Infektionsverlauf in akklimatisierten und nichtakklimatisierten Versuchstieren. Dagegen sind die Abweichungen von den Ergebnissen des Normalverlaufs beträchtlich:

Neben einer signifikanten Verkürzung der Überlebensdauer (Tab. 6) imponiert bei den bei höherer Umgebungstemperatur gehaltenen Versuchstiere insbesondere das Verhalten ihrer Körpertemperatur, die während der Infektion nur wenig unter den Ausgangswert absinkt (Abb. 5) und damit bei weitem nicht den vom Normalverlauf her bekannten kontinuierlichen Temperaturabfall zeigt. Allein der Körpertemperatur nach zu urteilen, müßten die Versuchstiere durch die erhöhte Umgebungstemperatur einen positiven Einfluß auf den Infektionsverlauf erfahren haben, zumal KRETSCHMAR (1961) der Ansicht ist, daß sich bereits aus dem Absinken der Körpertemperatur Rückschlüsse auf das Ausmaß der Parasitämie und damit auf den Krankheitszustand der Tiere ziehen lassen.

Doch scheint diese Beobachtung nur für den normalen Infektionsverlauf ($22^{\circ}C$) zuzutreffen, da, wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, die Körpertemperatur der Versuchstiere bei einer Umgebungstemperatur von $32^{\circ}C$ trotz sprunghaften Anstiegs der Parasitämie im Verlauf der Infektion nur wenig unter den Ausgangswert abfällt (Abb. 5). Dabei folgt die Körpertemperatur der anämischen Mäuse völlig geregelten Bewegungen, da nach Untersuchungen von PICHOTKA et al. (1955 c) der Abfall der Körpertemperatur im O_2 -Mangel direkt von der Umgebungstemperatur abhängig ist.

Gerade diese Tatsache scheint sich jedoch ungünstig auf die Überlebenschancen der bei $32^{\circ}C$ gehaltenen Versuchstiere auszuwirken, zumal sich das Ausmaß der Parasitämie dieser Tiere nicht wesentlich von den Werten des normalen Infektionsverlaufs unterscheidet (Abb. 7) und damit ein Einfluß von seiten der Parasitenentwicklung wenig wahrscheinlich ist:

Nach Beobachtungen von PICHOTKA et al. (1955 c) wird nämlich die O_2 -Aufnahme im O_2 -Mangel um so geringer, je höher die Körpertemperatur der Versuchstiere ist. Es ist daher anzunehmen, daß die Überlebensbedingungen im O_2 -Mangel bei höherer Körpertemperatur infolge der geringeren O_2 -Aufnahme ungünstiger werden. Dieses deckt sich auch mit den Erfahrungen von GELLHORN (1937), daß der Erstickungstod bei höherer Körpertemperatur schnell-

ler eintritt. Offensichtlich kommt es im O_2 -Mangel bei höherer Körpertemperatur zu einem Mißverhältnis zwischen Energieproduktion und -bedarf, da einerseits die Energieproduktion infolge der geringeren O_2 -Aufnahme erniedrigt, andererseits jedoch der Energiebedarf nach der RGT-Regel erhöht ist.

Demzufolge muß sich auch die Stoffwechselsituation der anämischen Mäuse bei einer Umgebungstemperatur von $32^{\circ}C$ aufgrund ihrer relativ höheren Körpertemperatur gegenüber den bei $22^{\circ}C$ gehaltenen Kontrolltieren trotz gleich starker Parasitämie verschlechtert haben, was tatsächlich in einer signifikant verkürzten Überlebenszeit der Versuchstiere seinen Ausdruck findet.

F. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Für den Verlauf der Pl. berghei-Infektion in der Maus ist die Virulenz der Erreger von entscheidender Bedeutung. Dabei verstehen wir heute unter Virulenz nicht mehr nur eine Eigenschaft des Erregerstammes, sondern mit WESTPHAL (1964) das Produkt aus Toxigenität des Erregers und der Resistenz des Wirtes. Demzufolge werden sich Virulenzunterschiede des Erregers nicht allein auf Änderungen seiner Pathogenität, sondern auch auf Resistenzveränderungen des Wirtstieres zurückführen lassen.

Seitdem im Januar 1961 mit der experimentellen Beobachtung des Pl. -Stammes K 173 im Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen begonnen wurde, ließen sich keine Änderungen seiner Pathogenität feststellen, auch nicht wenn die Passagefolge gesteigert oder die Erreger unter Zusatz von Glyzerin bei -79°C eingefroren wurden (vgl. KRETSCHMAR, 1964 a). Ebenso stellt die anscheinend abgeschwächte Virulenz der Plasmodien bei Ernährung der Versuchstiere mit einer PAB-Mangeldiät (JACOBI und KRETSCHMAR, 1962; KRETSCHMAR und HAAKH, 1964; KRETSCHMAR, 1964 b, 1965 b, 1966) nur eine temporäre Wachstumshemmung der Parasiten dar, die bei Übergang zu einer normalen Diät wieder aufgehoben wird.

Echte Unterschiede in der Virulenz der Plasmodien, wie sie sich beispielsweise im Infektionsverlauf genetisch uneinheitlicher Mäusestämme (vgl. KRETSCHMAR, 1961) und unter dem Einfluß exogener Faktoren, wie dem experimentell bedingten Stress (vgl. KRETSCHMAR, 1961, 1962, 1965 b) zeigen, deuten vielmehr auf Änderungen der Wirtstierresistenz hin.

Daß die Umgebungstemperatur der Versuchstiere als weiterer exogener Faktor die Virulenz der Plasmodien beeinflusst, zeigen die Ergebnisse der von mir an Pl. berghei-infizierten Mäusen durchgeführten Untersuchungen. So nimmt die Infektion bei einer Umgebungstemperatur von 32°C einen deutlich rapideren Verlauf als bei der bei uns üblichen Tierstalltemperatur von 22°C . Dagegen ist der Infektionsverlauf bei einer Umgebungstemperatur von 12°C so sehr verlangsamt, daß fast ein Drittel der Mäuse die Folgen der Infektion übersteht.

Auch diese Unterschiede in der Virulenz der Plasmodien lassen sich in erster

Linie auf Resistenzveränderungen der Wirtstiere zurückzuführen, wobei die Resistenz der Mäuse dadurch herabgesetzt wird, daß durch Erhöhung der Umgebungstemperatur eine Verschlechterung der Stoffwechselsituation eintritt. Entsprechend kommt es bei niedriger Außentemperatur zu erhöhter Resistenz der Versuchstiere. Die Ursache dieser Resistenzsteigerung ist in einer herabgesetzten Fähigkeit zur Blutneubildung zu sehen, die bei der für Pl. berghei typischen Bevorzugung unreifer Erythrozyten für das Maß der Parasitämie und damit die Entwicklung der Plasmodien entscheidend ist.

Die hierdurch erwiesene Abhängigkeit der Virulenz der Plasmodien von der Umgebungstemperatur macht einen direkten Vergleich der bisher publizierten Versuchsergebnisse - insbesondere der Resultate chemotherapeutischer Prüfungen - weitgehend unmöglich. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit zur Einbeziehung der Umgebungstemperatur als wesentlicher Faktor bei der Standardisierung der experimentellen Malaria-Infektion.

G. ZUSAMMENFASSUNG

In Untersuchungen an je 24 Pl. berghei-infizierten NMRI-Mäusen, die ohne und mit vorheriger Akklimatisation bei von der normalen Umgebungstemperatur (22°C) stark abweichenden Raumtemperaturen (12°C und 32°C) gehalten wurden, konnte gezeigt werden, daß sich die Außentemperatur nicht nur auf die Entwicklung und Pathogenität der Plasmodien im wechselwarmen Überträger, sondern auch im warmblütigen Wirt auswirkt.

Dieser Einfluß manifestiert sich bei einer Umgebungstemperatur von 12°C einmal in einem häufigen und regelmäßigen Auftreten von Spontanheilungen sowie einer deutlichen Verlängerung der mittleren Überlebensdauer derjenigen Tiere, die der Infektion erliegen, obwohl die Körpertemperatur dieser Mäuse nach Infektion mit Pl. berghei auf extrem niedrige Werte absinkt; zum andern ist die Gesamtparasitämie gegenüber dem normalen Infektionsverlauf (22°C UGT) auffallend stark vermindert. Regelmäßige Auswertungen des Blutbildes weisen aber nicht auf eine direkte Wachstumshemmung der Plasmodien, sondern auf eine bei dieser Umgebungstemperatur herabgesetzte Fähigkeit zur Blutneubildung hin, die bei der für Pl. berghei typischen Bevorzugung unreifer Erythrozyten für das Ausmaß der Parasitämie entscheidend ist. Allerdings können diese Beobachtungen nur bei nichtakklimatisierten NMRI-Mäusen gemacht werden, während sich bei Tieren mit vorheriger Akklimatisation signifikante Unterschiede zu den Kontrollen nicht nachweisen lassen.

Bei einer Umgebungstemperatur von 32°C manifestiert sich der Einfluß der erhöhten Außentemperatur vor allem in einer signifikant verkürzten Überlebensdauer der Versuchstiere sowie in der Tatsache, daß die Körpertemperatur der Tiere im Verlauf der Infektion den Normalwert nur wenig unterschreiten. Dagegen weicht das Ausmaß der Parasitämie nicht signifikant von den bei normalem Infektionsverlauf (22°C UGT) ermittelten Werten ab.

Die experimentell erwiesene Tatsache, daß die malarieinfizierten Mäuse bei einer Umgebungstemperatur von 12°C bessere Überlebensaussichten als bei normaler Raumtemperatur (22°C) haben, dürfte auf zwei Faktoren zurückzuführen sein:

1. indirekte Hemmung der Parasitenentwicklung durch verminderte Erythropoese und daraus resultierender schwächerer Blutverlust;
2. geringerer O_2 -Bedarf bei tiefer Körpertemperatur, so daß der O_2 -Mangel der anämischen Maus besser toleriert werden kann.

Andererseits wird die O_2 -Aufnahme im O_2 -Mangel um so geringer, je höher die Körpertemperatur der Versuchstiere ist, so daß bei einer Umgebungstemperatur von $32^{\circ}C$ infolge der relativ höheren Körpertemperatur der Tod früher eintritt.

Die eindeutige Abhängigkeit der Virulenz der Malariaerreger von der Umgebungstemperatur der warmblütigen Wirte verlangt die Einhaltung einer bestimmten Raumtemperatur für die Standardisierung der experimentellen Malaria-Infektion in der Maus.

H. LITERATURVERZEICHNIS

- ADOLPH, E.F., (1948) Lethal limits of cold immersion in adult rats
Amer. J. Physiol 155: 378 - 387
- ALDERS, N. und WERTHEIMER, E., (1930) Über eine Form der Gewöhnung an
Luftverdünnung.
Z. exper. Med. 70: 319 - 323
- BASU, P.C., MONDAL, M.M. und CHOWDHURY, D.S., (1962)
Studies on Plasmodium berghei VINCKE and LIPS,
1948 Part. XXXII. Effects of the lowering and raising
body temperature of the host (white rat) on the course
of Plasmodium berghei infection.
Indian J. Malar. 16: 33 - 40
- BRUCE-CHWATT, L.J. (1965) Les souches de souris résistantes au Plasmodium
berghei.
Ann. Soc. Belge Med. Trop. 45: 299 - 312
- CHANCE, M.R.A., (1957) The contribution of environment to uniformity.
Labor. Animals Bur. Coll. Papers, 6: 59 - 73
- CHEN, K.K., ANDERSON, R.C., STELDT, F.A. und MILLS, C.A., (1943)
Environmental temperature and drug action in mice.
J. Pharmacol. exper. Ther. 79: 127 - 132
- COVINO, B.G., CHARLESON, D.A. und D'AMATO, H., (1954)
Ventricular fibrillation in the hypothermic dog.
Amer. J. Physiol. 178: 148 - 154
- FISCHER, L. und REICHENOW, E., (1952) Malaria. Handbuch Innere Medizin.
Springer Verlag Berlin, Bd. 1/2: 433 - 533
- FLÜCKIGER, E.D. und VERZAR, F., (1952) Senkung und Restitution der Kör-
pertemperatur bei niedrigem atmosphärischem Druck
und der Einfluß von Thyreoidea, Hypophyse und Ne-
bennierenrinde auf dieselbe.
Helvet. Physiol. Acta. 10: 349 - 359

- FRANK, E. und WELZER, K., (1948) Der Gaswechsel im O₂-Mangel bei Behaglichkeitstemperatur.
Pflügers Arch. 250: 320 - 342
- GÄNSHIRT, H., HIRSCH, H., KRENKEL, W., SCHNEIDER, M. und ZYLKA, W., (1954) Über den Einfluß der Temperatursenkung auf die Erholungsfähigkeit des Warmblütergehirns.
Arch. exper. Path. und Pharm. 222: 431 - 448
- GELLHORN, E., (1937) Oxygen deficiency, carbon dioxide and temperature regulation.
Amer. J. Physiol. 128: 190 - 194
- GOEBEL, A., FUKAS, H.K., KLANTE, W. und IMDAHL, H., (1951) Sauerstoffverbrauch und Körpertemperatur von Ratten im Sauerstoffmangel.
Z. exper. Med., 117: 384 - 392
- GROSSE-BROCKHOFF, F. und SCHOEDEL, W., (1943) Das Bild der akuten Unterkühlung im Tierexperiment.
Arch. exper. Path. und Pharm. 201: 417 - 441
- GRÜNEBERG, H. (1954) Variation with inbred strains of mice.
Nature. 173: 674 - 676
- HAGEMANN, E. und SCHMIDT, G., (1960) Ratte und Maus - Versuchstiere in der Forschung.
Walter de Gruyter u. Co. Berlin
- HATERIUS, H.O. und MAISON, G.L., (1948) Experimental hypothermia and rewarming in the dog recovery after severe reduction in body temperature.
Amer. J. Physiol. 152: 225 - 232
- HEGNAUER, A.H., FLYNN, J. und D'AMATO, H., (1951) Cardiac physiology in dog during rewarming from deep hypothermia.
Amer. J. Physiol. 167: 69 - 74
- HEGNAUER, A.H. und D'AMATO, H., (1954) Oxygen consumption and cardiac output in the hypothermic dog.
Amer. J. Physiol. 178: 138 - 141
- HEWITT, R., (1942) Studies on the host parasite relationships of untreated infection with *Plasmodium lophurae* in ducks.
Amer. J. Hyg. 36: 6 - 42

- HUGGINS, C., BLOCKSOM, B.H. und NOONAN, Jr. und W.J., (1939)
Temperature conditions in the bone marrow of rabbit,
pigeon and albino rat.
Amer. J. Physiol. 115: 395 - 401
- HÜLLENHAGEN, O., (1944) Über Störungen der Wärmeregulation im akuten
O₂-Mangel bei Kältebelastung.
Luftfahrtmedizin. 9: 16
- HUFF, C.G., (1939) Relations between malarial infections and body tempera-
ture in canaries.
Amer. J. Hyg. 29: 149 - 154
- HUGHES, F.W. und TATUM, A.L., (1956) Effects of hypoxia and intercurrent
infections on infections by Plasmodium berghei in rats.
J. Inf. Dis. 99: 38 - 43
- JACOBI, K. und KRETSCHMAR, W., (1962) Die Milchtherapie der Malaria-
Infektion (Plasmodium berghei) bei der Maus.
Z. Tropenmed. Parasit. 13: 286 - 304
- KRAMER, K. und REICHEL, H., (1944) Die Grenzen der chemischen Wärme-
regulation.
Klin. Wschr., p. 192
- KREIDL, A. und NEUMANN, A., (1914) Über die Verlängerung der Zeit bis
zum Auftreten terminaler Atmungen bei wiederhol-
tem, unmittelbar aufeinanderfolgenden Aufenthalt
eines Warmblüters im abgesperrten Luftraum.
Pflügers Arch. 158: 263 - 274
- KRETSCHMAR, W., (1961) Infektionsverlauf und Krankheitsbild bei mit
Plasmodium berghei infizierten Mäusen des Stammes
NMRI.
Z. Tropenmed. Parasit. 12: 346 - 367
- KRETSCHMAR, W., (1962) Resistenz und Immunität bei mit Plasmodium
berghei infizierten Mäusen.
Z. Tropenmed. Parasit. 13: 159 - 175
- KRETSCHMAR, W., (1964 a) Die Abhängigkeit des Verlaufs der Nagetier-
Malaria (Plasmodium berghei) in der Maus von exoge-
nen Faktoren und der Wahl des Mäusestammes. III. Plas-
modien und Mäusestämme.
Z. Versuchstierk. 4: 46 - 56

- KRETSCHMAR, W., (1964 b) Die diätetische Beeinflussung der Malaria (Plasmodium berghei) in der Maus.
Z. Parasitenk. 25: 20 - 21
- KRETSCHMAR, W., (1965 a) Der Verlauf der Malaria (Plasmodium berghei) in hochresistenten Mäusestämmen.
Z. Versuchstierk. 6: 108 - 119
- KRETSCHMAR, W., (1965 b) The effect of stress and diet on resistance to Plasmodium berghei and malarial immunity in the mouse.
Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 45: 325 - 343
- KRETSCHMAR, W., (1966) Die Bedeutung der p-Aminobenzoesäure für den Krankheitsverlauf und die Immunität bei der Malaria im Tier (Plasmodium berghei) und im Menschen (Pl. falciparum).
I. Versuche an NMRI-Mäusen.
Z. Tropenmed. Parasit. 17: 301 - 320
- KRETSCHMAR, W. und HAAKH, U., (1964) Die Abhängigkeit des Verlaufs der Nagetier-Malaria (Plasmodium berghei) in der Maus von exogenen Faktoren und der Wahl des Mäusestammes.
II. Beunruhigung und Ernährung der Mäuse.
Z. Versuchstierk. 4: 32 - 45
- KRETSCHMAR, W. und JERUSALEM, C., (1963) Milz und Malaria. Der Infektionsverlauf (Plasmodium berghei) in splenektomierten NMRI-Mäusen und seine Bedeutung anhand der histopathologischen Veränderungen der Milz nichtsplenektomierter Mäuse.
Z. Tropenmed. Parasit. 14: 279 - 310
- KRETSCHMAR, W. und MATTHAEI, H.-D., (1965) Parasitämie, Anämie und Mortalität in NMRI-Mäusen nach Infektion mit Plasmodium berghei in Abhängigkeit von der Parasitendichte im Inokulum.
Z. Tropenmed. Parasit. 16: 187 - 195
- LUTZ, W. und v. WERZ, R., (1951) Leben bei niedriger Körpertemperatur.
Münch. Med. Wschr. p. 161 - 167
- McGHEE, R. B., (1959) The effect of lowered temperatures of the host on the reproductive activity of Plasmodium cathemericum.
J. Protozool., Utica. 6: 84 - 88

- NYE, P.A., (1961) Temperature studies on chicks infected with *Plasmodium gallinaceum* (Brumpt, 1935) including some effects of cooling host and parasite.
Exper. Parasit. 11: 77 - 89
- PENROD, K.E., (1949) Oxygen consumption and cooling rates in immersion hypothermia in the dog.
Amer. J. Physiol. 157: 436 - 443
- PICHOTKA, J., CREUTZFELDT, O. und HÖFLER, W., (1955a) Das Verhalten der Körpertemperatur im Sauerstoffmangel.
Arch. Exper. Path. u. Pharmacol. 225: 314 - 322
- PICHOTKA, J., CREUTZFELDT, O. und HÖFLER, W., (1955 b) Die Bewegung von Körpertemperatur und O₂-Aufnahme beim Wechsel zwischen normalen und erniedrigten O₂-Spannungen.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 225: 323 - 334
- PICHOTKA, J., CREUTZFELD, O. und HÖFLER, W., (1955 c) Die Bewegung der Körpertemperatur und der Sauerstoffaufnahme bei veränderlicher Wärmeabgabe im O₂-Mangel.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 225: 335 - 341
- PRECHT, H., CHRISTOPHERSEN, J. und HENSEL, H., (1955) Temperatur und Leben.
Springer Verlag Berlin
- ROSENHAIN, F.R. und PENROD, K.E., (1951) Blood gas studies in the hypothermic dog.
Amer. J. Physiol. 166: 55 - 60
- SCHULTEN, H., (1953) Lehrbuch der klinischen Hämatologie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart
- SERGEANT, E. und PONCET, A., (1961) De la température des souris blanches pendant l'accès parasitaire de paludisme à *Plasmodium berghei*.
Arch. Inst. Pasteur, Algerie. 39: 133 - 134
- SPIEGEL, A. und GÖNNERT, R., (1961) Neue Käfige für Mäuse und Ratten.
Z. Versuchstierk. 1: 38 - 46
- SPIEGEL, A., (1963) Über das Versuchstier "pro analysi".
Deutsche Med. Wschr. 88: 1203 - 1206

- VERAIN, A. und VERAIN, A., (1955) Premiers essais d'enregistrement de la température, au cours de l'affection due au Plasmodium berghei.
C.R. Soc. Biol. 149: 2174 - 2176
- v. WERZ, R., (1943) Sauerstoffmangel als Ursache des Kältetodes.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 202: 561 - 592
- v. WERZ, R., (1954) Zur Problematik des künstlichen Winterschlafs.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 222: 78 - 79
- WESTPHAL, A., (1964) Infektiositäts- und Virulenzunterschiede bei parasitären Krankheitserregern.
Z. Parasitenk. 25: 14 - 25
- WEZLER, K. und FRANK, E. (1948) Chemische Wärmeregulation gegen Kälte und Hitze im Sauerstoffmangel.
Pflügers Arch. 250: 439 - 464

Herrn Dozent Dr. Wolfram Kretschmar möchte ich für die Stellung des interessanten Themas und die stets gewährte Unterstützung meinen aufrichtigen Dank sagen.

Den Direktoren des Tropenmedizinischen Instituts Herrn Professor Dr. Ludolph Fischer und Herrn Professor Dr. Hermann Knüttgen danke ich für die Erlaubnis, an diesem Institut zu promovieren.

Lebenslauf

Am 2. März 1942 wurde ich, Ulrich Ringwald, als Sohn des Stadtoberamtmanns Otto Ringwald und seiner Ehefrau Dora, geb. Grauer, in Stuttgart geboren.

Nach der Volksschulzeit besuchte ich in Stuttgart das Dillmann-Gymnasium, wo ich im Februar 1961 die Reifeprüfung bestand.

Im SS 1961 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität Tübingen. Dort bestand ich im März 1962 die naturwissenschaftliche und im September 1963 die ärztliche Vorprüfung. Mit Ausnahme eines Semesters an der Universität Wien setzte ich mein Studium an der Universität Tübingen fort und schloß es im Juli 1967 mit dem Medizinischen Staatsexamen ab.

